UNIVERSITÉ DE NANCY - ÈCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE
1918-1919 2e Série N° 57

ACTION DE QUELQUES TERRES RARES

SUR

LE BACILLE PYOCYANIQUE

ET

LES BACILLES DE LA DYSENTERIE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement, le 31 Juillet 1919
à l'Ecole supérieure de Pharmacie de Nancy

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

(Mention Pharmacie)

PAR

ALEXIS MOUSSALLI
Pharmacien de 1re classe de l'Ecole supérieure de Paris
NÉ AU CAIRE (EGYPTE), LE 29 AVRIL 1894

Examinateurs de la Thèse
- MM. BRUNTZ . . . . . *Président.*
- SARTORY . . . . . *Juge.*
- LAVIALLE. . . . . *Juge.*

PARIS
VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS
23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1919

UNIVERSITÉ DE NANCY - ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE
1918-1919 2e Série N° 57

ACTION DE QUELQUES TERRES RARES

SUR

LE BACILLE PYOCYANIQUE

ET

LES BACILLES DE LA DYSENTERIE

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement, le 31 Juillet 1919
à l'Ecole supérieure de Pharmacie de Nancy

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY

(**Mention Pharmacie**)

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

PAR

ALEXIS **MOUSSALLI**

Pharmacien de 1re classe de l'Ecole supérieure de Paris

NÉ AU CAIRE (EGYPTE), LE 29 AVRIL 1894

Examinateurs de la Thèse

MM. BRUNTZ . . . . . *Président.*
SARTORY . . . . . *Juge.*
LAVIALLE. . . . . *Juge.*

PARIS
VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS
23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1919

UNIVERSITÉ DE NANCY -:- ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Directeur : M. BRUNTZ, I. ✪, ✱.
Assesseur : M. FAVREL, ✲, I. ✪.

Professeurs :

MM.

FAVREL, ✲, I. ✪	Chimie organique.
GRELOT, ✲, I. ✪	Pharmacie galénique.
BRUNTZ, I. ✪, ✱	Matière médicale.
SARTORY, ✲, ✪, ✱	Pharmacie chimique.
LAVIALLE	Histoire naturelle.

Chargé de cours magistral :

DOURIS, ✱	Analyse chimique et Toxicologie.

Agrégé en exercice :

DOURIS, ✱	Chimie et Toxicologie.

Agrégé libre :

GIRARDET, I. ✪	Chimie et Toxicologie.

Chargés de cours :

FAVREL, ✲, I ✪	Chimie minérale et Minéralogie.
DOURIS, ✱	Physique.
HOLLANDE	Histoire naturelle (Zoologie).
BUSQUET, ✪	Pharmacodynamie.
DOURIS, ✱	Chimie biologique.
GRELOT ✲, I. ✪	Hydrologie et Géologie.
SARTORY, ✲, ✪, ✱	Microbiologie.
VERNIER, ✪	Hygiène.
N***	Législation.

Chargé de cours libre :

SARTORY, ✲, ✪, ✱	Mycologie.

Chefs de travaux :

GIRARDET I. ✪	Chimie, Analyse chimique et Toxicologie.
HOLLANDE	Micrographie.
GILLOT	Pharmacie.
VERNIER, ✪	Microbiologie et parasitologie.
PILLOT, I. ✪, chargé de travaux	Physique.

Secrétariat

BONTEMS, I. ✪	Secrétaire.
BERTRAND, I. ✪	Commis.
TRIBOLET	Commis.
F. LAMBERT DES CILLEUILS, ✲, ✪, I. ✪	Secrétaire honoraire.

L'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les improuver.

A MES PARENTS

En gage de ma plus grande affection.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR BRUNTZ

Directeur de l'Ecole Supérieure de Pharmacie de Nancy.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SARTORY

Sincères remerciements.

A MON CHER MAITRE

MONSIEUR ALBERT FROUIN

Hommage de ma gratitude et de ma considération.

A TOUS MES MAITRES

AVANT-PROPOS

Collaborant depuis 1917 aux recherches de M. Frouin, à l'Institut Pasteur à Paris, sur l'action biologique des terres rares sur les microbes, je fis part de ces intéressants travaux à M. le Professeur Sartory alors mobilisé à Paris.

Il m'engagea vivement à réunir une partie de ces recherches dans le but d'en faire une thèse de Doctorat en Pharmacie.

Que M. le Professeur Sartory veuille bien agréer mes sincères remerciements pour ses bienveillants conseils et son inlassable encouragement.

Mon cher Maître, M. Albert Frouin voudra bien recevoir ici l'expression de ma gratitude et de ma considération.

C'est à lui que je dois et le sujet de ce travail et mon initiation à ce genre de recherches.

INTRODUCTION

On désigne sous le nom de « terres rares » un certain nombre de sesquioxydes, difficilement réductibles, et dont les propriétés physiques et chimiques diffèrent extrêmement peu.

De ce fait proviennent les difficultés de la séparation et de l'identification des divers éléments qui constituent ces terres rares.

Ce sera grâce à la séparation complète de ces éléments, que nous pourrons étudier les actions propres à chacun d'eux.

Cette séparation est encore incomplète jusqu'à ce jour; malgré cela un certain nombre de sels de terres rares, sont considérés comme étant définitivement identifiés et présentant une certaine pureté.

Nous donnerons un bref aperçu historique de la découverte des terres rares, et de leur séparation qui a, comme on le conçoit, un intérêt capital, pour l'étude des propriétés biochimiques que peuvent avoir les divers éléments qui les constituent.

Le nombre relativement élevé des terres rares isolées

par les chimistes nous a forcé d'en choisir un certain nombre pour en étudier diverses propriétés vis-à-vis de quelques bactéries.

Nous avons préféré limiter nos recherches pour en faire une étude précise.

Les sels de terres rares dont nous nous sommes servi au cours de ce travail sont les sulfates de *lanthane*, de *thorium*, d'*erbium* et d'*yttrium* dont nous avons étudié les actions biologiques sur deux bactéries : action favorisante, à faible dose, sur le développement du microbe, action antiseptique à des concentrations plus grandes, action agglutinante sur les émulsions microbiennes, action bactéricide et antitoxique.

Le choix de ces sels s'imposait à nous parce que, dans l'état actuel de nos connaissances, on peut considérer chacun d'eux comme représentant un groupe, et d'autre part nous pouvions être guidé par les résultats des divers biologistes qui ont étudié l'action des terres rares sur les microbes.

Nous exposerons d'ailleurs l'historique de ces recherches toutes récentes et encore peu nombreuses.

Dans la première partie de ce travail nous exposerons nos recherches sur le *bacille pyocyanique*, et dans la deuxième partie celles faites sur les bacilles de la dysentérie : *Bacille de Shiga* et *bacille de Flexner*.

Au début de chaque partie, nous donnerons les caractères des bactéries que nous avons étudiées; nous rappellerons aussi quelques-unes de leurs propriétés en faisant ressortir celles qui se sont modifiées par l'action des terres rares.

Les méthodes et techniques employées sont indiquées à fur et à mesure de leur emploi.

Historique des terres rares.

En 1751, Cronstedt (1) découvrit la cérite dans une mine de Bastanaès, et en 1784, Bergmann et Elhuyar (1) confondant les terres rares avec la chaux publièrent une analyse incorrecte de ce minéral.

En 1794, Gadolin (3) découvrit les terres rares dans dans un minéral pesant qui fut appelé depuis *gadolinite* et qu'Arrhenius avait trouvé six ans auparavant aux environs d'Ytterby.

Après la découverte de la *glucine*, Ekcberg (4) examinant de nouveau la *gadolinite* d'Ytterby, sépara cet oxyde des terres rares qui l'accompagnaient dans les produits de Gadolin. Il donna à ces terres le nom d'*yttria*. Il (5) retrouva l'*yttria* unie au *tantale* qu'il découvrit dans un autre minéral noir d'Ytterby auquel il donna le nom d'*yttrotantalite*.

En 1804, le *cérium* était découvert dans la *cérite* simultanément par Klaproth (6) en Allemagne, par Berzélius et Hissinger (7) en Suède. Klaproth nomma son oxyde terre *ochroïte* à cause de sa couleur. Berzé-

1. Cronstedt, *S. V. Akad. Handl.*, p. 227, 1751.
2. Bergmann et Elhuyar, *S. V. Akad. Handl.*, p. 121, 1784.
3. Gadolin, *S. V. Akad. Handl.*, p. 137, 1794.
4. Ekcberg, *An. Crell's*, p. 2, 63, 1799.
5. Ekcberg, *Sev. Vet. Akad. Handl.*, p. 68, 1802.
6. Klaproth, *Sitz. Akad.* Berlin, p. 155, 1804.
7. Berzélius et Hissinger, *An. Ch. Ph.*, p. 50-245, 1804.

LIUS et HISSINGER nommèrent *cérium* le nouvel élément.

Aussitôt après, VAUQUELIN (1) reprenant le travail de KLAPROTH et de BERZÉLIUS, confirmait la découverte du *cérium*. En 1805 (2), il analysa la *cérite* et entreprit l'étude des sels de *cérium*.

En 1808, T. ALLEN (3) supposait que l'*allanite* était identique à la *gadolinite* ; en 1810, THOMSON (4) analysa l'*allanite* et HISSINGER (5) la *cérite*.

En 1814, BERZÉLIUS et GAHN (6) séparèrent l'oxyde de *cérium* de l'*yttria*.

Depuis cette époque, jusqu'à celle où MOSANDER décrivit ses célèbres travaux, de nombreuses recherches furent publiées sur le *cérium* et les minéraux qui en renferment. Toutes ces recherches ont été faites nécessairement avec des matériaux fort impurs.

L'oxyde de *cérium* de cette époque correspond à ce que nous appelons aujourd'hui le *groupe cérique* et l'*yttria* au groupe *yttrique*.

En 1839, MOSANDER (7) annonça que l'oxyde de *cérium* était un mélange de deux corps : l'oxyde de *cérium* vrai et le *lanthane*.

En 1842, le même auteur (8) trouva dans l'oxyde de *cérium* un nouvel oxyde auquel il donna le nom de *didyme*, produit complexe décomposé depuis.

1. VAUQUELIN, *An. Ch. Ph.*, p. 50-140, 1804.
2. VAUQUELIN, *An. Ch. Ph.*, p. 54-28, 1805.
3. ALLEN, *Proc. Royal. Soc.*, p. 6-345, 1808.
4. THOMSON, *Proc. Royal Soc.*, p. 6-384, 1808.
5. HISSINGER, *Afh. Fys. kim. Min.*, p. 3-283, 1810.
6. BERZILIUS et GAHN, *Afh. Fys. Min.*, p. 4-217, 1814.
7. MOSANDER, *An. Ch. Ph.*, 3, p. 11-464, 1839.
8. MOSANDER, *An. Ch. Ph.*, p. 44-125, 1842.

C'est donc, en 1842, que le *cérium* fut réellement séparé par Mosander des autres oxydes qui l'accompagnaient. Cependant, depuis cette époque, l'identité du *cérium* fut plusieurs fois mise en doute.

On comprend que, dans ces conditions, la liste des éléments rares ait subi de multiples fluctuations. Les dédoublements de substances considérées comme espèces définies, les erreurs et les hypothèses ont rendu fort obscure l'histoire des terres rares.

Moissan (1), dans son *Traité de Chimie minérale*, en parlant au sujet des terres rares, s'exprime ainsi : « Aujourd'hui, cette étude est loin d'être achevée et il est probable que l'énumération actuelle de ces éléments est appelée à subir, dans l'avenir, de nombreuses modifications ».

Du jour où Auer de Welsbach proposa l'application des terres rares à l'incandescence par le gaz, leurs minérais acquirent brusquement une grande importance industrielle.

Nous donnerons à la fin de cet historique une note bibliographique des méthodes de séparation et de fractionnement des terres rares.

Les principales terres rares, actuellement considérées comme définitivement séparées et identifiées, peuvent se classer en *quatre* groupes.

1° Métaux diatomiques; *glucinium*.

1. Moissan, *Traité de Chimie Minérale*, 1904.

Les métaux triatomiques que l'on divise en deux groupes qui sont les deux suivants :

2° Le groupe cérique qui comprend : *Cérium*, *Lanthane*, *Praséodyme*, *Néodyme*, *Samarium*, *Gadolinium*, et *Dyspronium*.

3°) Le groupe Yttrique comprenant : *Yttrium*, *Terbium*, *Erbium*, *Holmium*, *Thulium*, *Ytterbium*, et *Scandium*.

4° Le *Thorium*.

L'emploi des sels de cérium dans les réactions chimiques a été préconisé par Job (1) qui a montré que l'oxyde de cérium peut véhiculer l'oxygène et oxyder le glucose.

L'oxyde céreux s'oxyde dans une solution de carbonate de soude sous l'influence de l'oxygène de l'air en donnant du peroxyde de Cérium CeO^3 qui oxyde le glucose et passe lui-même à l'état d'oxyde céreux qui réabsorbe l'oxygène.

Les passages successifs en oxydes *céreux*, *cérique* et *peroxyde* de *cérium* peuvent être immédiatement reconnus à la couleur de la solution.

Le sel *céreux* seul et le glucose seul ne s'oxydent pas rapidement.

Fouard (2) a constaté que les sels de terres rares provoquent, à un plus haut degré que ne le font les alcalino-terreux, l'oxydation de l'*hydroquinone* par l'oxygène de l'air.

1. Glucose et.. Cérium, Sur un nouveau mécanisme d'oxydation provoquée. Job., *C. R.*, t. CXXXIV, p. 1052, 1902.

2. Sur une réaction de type oxydasique présentée par les composés halogènes de terres rares. *C. R. As. sc.*, t. CXLII, p. 1163.

Il a déduit pour chaque élément la valeur du rapport

$$R = \frac{\text{oxygène absorbé}}{\text{oxygène total}}$$

	Rapport. R. p. 100
Chlorure de Samarium.	75,75
— Thorium.	63,10
— Cérium	57,71
— Néodyme	54,23
— Praséodyme	53,35
— Lanthane	22,60
Sodium	17,82

Mason et Wilson (1) employèrent comme catalyseurs pour la fabrication de l'aldéhyde formique la matière qui constitue les manchons Auer.

Les oxydes de cérium, de lanthane et d'autres terres rares, résidus de la fabrication du nitrate de thorium, ont été proposés pour oxyder le *naphtalène* par l'acide sulfurique.

Le procédé est identique à la méthode au mercure sans présenter les mêmes avantages.

Action biologique des terres rares. — Nous venons de voir que les oxydes de terres rares peuvent, dans certaines conditions, être employés comme catalyseurs dans les réactions chimiques : Fabrication de l'aldéhyde formique et oxydation du naphtalène par l'acide sulfurique.

Mais ces oxydes et ces sels sont aussi des catalyseurs assez puissants pour provoquer des réactions chimiques

1. Mason et Wilson, *Proced. S. chim.*, t. XXI, p. 296, 1905.

identiques aux réactions biologiques : oxydation du glucose en présence de carbonate de soude (Job) ; fixation d'oxygène sur l'hydroquinone (Fouard).

Nous devons nous poser de suite une question : est-il possible que ces divers sels de terres rares exercent des actions identiques, favorisant les oxydations et les processus biologiques chez les êtres vivants?

A consulter d'une part les travaux de minéralogie désignant les minérais et les gisements où on les trouve, et d'autre part les analyses chimiques que l'on a faites de ces minerais, avec les quantités des divers oxydes que l'on a pu y trouver, on serait tenté de répondre par la négative.

Cependant, Lecoq de Boisbaudran a signalé le Cérium dans la muqueuse gastrique. Cossa (1) a montré que le *cérium*, le *lanthane* et le *didyme* sont très répandus. Il en trouve toujours dans l'apatite. Il en trouve aussi dans la schéelite compacte de Meymac, dans la staffelite de Nassau, dans des phosphorites, *ostéolithes* et *coprolithes* de plusieurs provenances.

Le marbre saccharoïde de Carrare et le coquiller calcaire d'Avellino contiennent aussi, d'après Cossa, du cérium, du lanthane et du *didyme* de 0 gr. 02 à 0 gr. 10 par kilogramme de calcaire.

Les os ont encore été l'objet de l'examen de Cossa. Il a fait deux essais sur deux kilogrammes de cendres d'os lavé. Il a trouvé à peu près 3 centigrammes d'oxalate des métaux en question par kilogramme.

Il croit pouvoir affirmer que le *cérium* le *lanthane*,

1. Cossa. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. LXXXVII, p. 377. Sur la diffusion du Cérium, du Lanthane et du didyme.

le *didyme* doivent être mis parmi les métaux les plus répandus de la nature, et qu'ils entrent dans la composition des êtres organisés.

Les recherches sur les actions biologiques directes des terres rares sur les êtres organisés sont de dates récentes : Torald Sollmann et E. D. Brown (1) donnent une pharmacologie du thorium.

Arthur Chace et W. Gies (2) ont étudié la toxicité du Thorium.

Mines (3) donne l'action de divers sels de terres rares sur la contraction cardiaque chez la grenouille.

Curie (4) a montré que le thorium et son oxyde ont, bien qu'à un moindre degré, la propriété radio-active du radium, ce qui a tout de suite provoqué l'emploi du thorium X ou mésothorium dans le traitement du cancer.

Action des terres rares sur les microbes.

Nous exposerons ici les recherches sur les actions biologiques des terres rares dans l'ordre chronologique parce que ces travaux sont tous de dates récentes et d'autres étant encore en cours, il est difficile de donner un aperçu des idées directrices des auteurs.

1. T. Solmann and E. D. Brown, Pharmacol. investigations of Thorium. *American Journ. of physiology*, t. XVIII, 1907.
2. Arthur Chace and W. Gies, Poisonous action of Thorium *Am. Journ. of physio.*, t. XVIII, p. 457.
3. Mines, The action of beryllium lanthanium, yttrium and cerium on frog's heart. *Journ. of. Physiol.*, t. XL, 1910, p. 327.
4. Curie, *C. R.*, p. 126-1101, 1898.

En 1911, Albert Frouin et Mlle S. Ledebt (1) publièrent la première note où il est question de l'action des terres rares sur les propriétés biologiques d'un microbe. L'intention des auteurs était de rechercher si des sels de terres rares, tels, que les sulfates de *thorium*, *cérium*, *lanthane*, *néodyme*, *praséodyme*, *samarium*, pouvaient remplacer dans un milieu simple et chimiquement défini pour la culture du *Bacille pyocyanique* la magnésie, nécessaire à la manifestation de la propriété biologique qui caractérise ce microbe, c'est-à-dire à la production des pigments.

Ils trouvèrent que ces sels de terres rares remplaçaient la magnésie, dans le milieu de culture, favorisaient la production de la pyocyanine, s'ils étaient employés à faibles doses et agissaient comme antiseptiques à des doses supérieures à un gramme par litre.

On voit donc : que les terres rares qui remplacent la magnésie au point de vue du développement du microbe ont de plus une action favorisante sur une propriété biologique du bacille pyocyanique : la production du pigment et enfin que les divers sels employés ont une action antiseptique quand ils sont ajoutés à des concentrations supérieures à un gramme par litre.

Le Thorium et le Praséodyme favorisent la production du pigment à un plus haut degré que les autres terres rares.

En 1912, Frouin (2) communiqua une seconde note,

1. M. Albert Frouin et Mlle S. Ledebt, *C. R. des séances de la Société de biologie*, 15 Juin 1912, t. LXXII, p. 981.
2. Frouin, *C. R. de la Société de Biologie*, t. LXXII, p. 1034, 1912.

sur l'action des terres rares sur le Bacille tuberculeux. Il résume le résultat de ses expériences de la façon suivante : à la dose de 0 gr. 005 p. 100 de milieu nutritif et peut-être à des doses inférieures, les *sulfates de cérium*, *lanthane*, *néodyme*, *praséodyme*, *samarium* favorisent le développement du *bacille tuberculeux*; à des doses plus élevées, cette action favorisante est beaucoup moins marquée; enfin à la dose de 0 gr. 10 p. 100, les sulfates de *néodyme* et *praséodyme* ont empêché tout développement du bacille tuberculeux, montrant ainsi une action antiseptique énergique.

Ces divers sels se classant, au point de vue chimique, parmi les alcalino-terreux, l'auteur a cherché s'ils pouvaient remplacer la *magnésie* dans le milieu de culture permettant le développement du *bacille tuberculeux*. Cette expérience a donné un résultat négatif.

La même année, le 14 Décembre, le même auteur (1) publie une nouvelle note donnant le résultat de ses recherches sur l'impossibilité de remplacer la magnésie par les sels de terres rares au point de vue du pouvoir végétatif du *bacille tuberculeux* et de l'*Aspergillus Niger*. Les sels employés étaient les *sulfates* de *cérium*, de *lanthane* de *néodyme*, de *thorium*, de *praséodyme*, de *samarium* et d'*yttrium*.

Quelles que soient les doses employées, ces divers sels n'ont pu remplacer la magnésie pour la culture du bacille *tuberculeux* et de l'*Aspergillus niger*.

Ajoutés au liquide de Raulin, les sels de *cérium*

1. Frouin, *C. R. de la Soc. de Biologie*, t. LXXIII, p. 640, 1912.

retardent la sporulation de l'*Aspergillus niger* (Communication orale de M. Frouin).

Le 26 Janvier 1913, M. Frouin (1) communique, à la Société de Biologie, une note sur l'action du sulfate de lanthane sur le développement du *B. subtilis* dont nous citons le texte intégral :

« J'ai montré antérieurement que la plupart des sels de terres rares favorisent le développement de certains microorganismes cultivés sur des milieux de constitution simple.

« Dans la présente Note j'étudie l'action du sulfate de lanthane sur le développement du *B. subtilis*.

« Lorsqu'on ensemence le bacille dans un milieu constitué par des acides aminés comme aliments azotés, du phosphate de potasse, du sulfate de magnésie comme aliments minéraux, le microbe se développe parfaitement bien avec tous ces caractères morphologiques habituels; si l'on ajoute à ce milieu du glucose et de la glycérine, le développement est généralement plus rapide et plus abondant.

« L'addition de divers sels de terres rares, tels que les sulfates de cérium de néodyme, de praséodyme, de thorium, d'yttrium aux doses de 0 gr. 5, 1 gramme, 1 gr. 50, n'a aucune action sur le développement du microbe; au-dessus des doses de 2 p. 1.000, le développement ne se produit plus.

« Avec le sulfate de lanthane ajouté à ce milieu de culture à la dose de 1 gramme ou 1 gr. 50 par litre, on

1. Frouin, *C. R. de la Société de Biologie*, tome LXXIV, p. 196, 1913.

observe que le B. subtilis se développe d'une façon homogène dans le milieu de culture sans donner le voile qui caractérise habituellement ce microbe; mais malgré des passages successifs du microbe dans un milieu renfermant du lanthane, le Bacille subtilis reprend ses caractères habituels de culture et se développe en voile, dès qu'on le reporte sur un milieu nutritif ne contenant pas de lanthane.

« J'ai cherché si d'autres microbes essentiellement aérobies, comme le B. tuberculeux, ne pourraient pas, eux aussi, donner une culture homogène en présence des sels de lanthane.

« Jusqu'ici les résultats de ces expériences ont été négatifs.

« L'action du sulfate de lanthane sur le développement du B. subtilis me paraissait intéressante à signaler, parce que cette modification des caractères de culture se produit seulement en présence du sulfate de lanthane et nullement avec les autres sels de terres rares que j'ai étudiés.

« Il y a donc là une sorte de spécificité que l'on doit attribuer, dans l'état de pureté où l'on peut obtenir les sels de lanthane, au lanthane lui-même.

« Nous avons montré qu'il existe une analogie tout à fait frappante entre ces divers sels; les propriétés catalysantes, oxydantes, sont communes à tous; mais nous avons vu déjà par leur action sur le B. Pyocyanique qu'ils présentent des activités différentes vis-à-vis de la production de la pyocyanine, les sels de thorium et de praséodyme étant les plus actifs.

« Le lanthane seul modifie les caractères de culture du B. subtilis. Il y a donc des activités différentes et spécifiques de ces sels sur les fonctions ou les caractères biologiques des microbes.

« Nous en donnerons plusieurs exemples au cours de ce travail.

Le 18 Août 1914, MM. Frouin et Roudsky (1) communiquent à l'Académie des Sciences les résultats de leurs expériences sur : Action bactéricide et antitoxique des sels de *lanthane* et de *thorium* sur le *vibrion cholérique*. Action thérapeutique de ces sels dans le *choléra expérimental*. (Nous citons *in extenso* la présente note parce qu'elle explique la genèse de notre travail).

« L'un de nous a étudié antérieurement l'action de divers sels de terres rares sur le développement de certaines espèces microbiennes (2).

« Nous avons constaté que, dans les milieux de constitution simple et chimiquement définis, ces sels s'opposent au développement des microorganismes s'ils sont employés à des doses supérieures à 2 grammes par litre. A des doses inférieures, ils modifient les propriétés biologiques et les caractères morphologiques des microbes. Ils exercent des actions agglutinantes et précipitantes sur les diverses bactéries en émulsion (*Faits confirmés par Simonini* (3) *quelques mois plus tard et par Girard et Audubert en 1918* (4).

1. Frouin et Roudsky, *C. R. A.S.* t. CLXIX, p. 410, 1914.
2. Albert Frouin et Mlle Ledebt, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, 1912, p. 981 et 1034; t. LXXIV, 1913, p. 196.
3. Simonini, *Centralblatt fur bakt.*, 1914-1915, t. LXXIV, p. 343; t. LXXV, p. 399.
4. Girard et Audubert, *C. R. Acad. Sc.*, t. CLXVII, p. 351, 1918.

« Dans d'autres expériences, nous avons vu que les sels de lanthane et de thorium, ingérés, ne sont pas toxiques et n'ont aucune action nocive sur les phénomènes digestifs et la nutrition des animaux.

« Nous avons pu faire ingérer 4 grammes de sulfate de thorium par 24 heures, pendant 20 jours, à deux chiens pesant 12 kilos et 12 kilogr. 500. Au bout de ce temps, les animaux avaient conservé leur poids initial. Les sels de lanthane se sont comportés de même façon.

« Nous avons pu nous-mêmes ingérer 4 grammes de sulfate de thorium, par 24 heures pendant 2 jours, sans éprouver le moindre trouble.

« Cet ensemble de propriétés nous a engagés à chercher si l'action antiseptique de ces substances constatée *in vitro* peut se produire *in vivo* vis-à-vis des microbes pathogènes du tube digestif ». Nous nous limiterons dans cette Note, aux résultats que nous avons obtenus avec le *vibrion cholérique*, bien que l'un de nous ait constaté, en collaboration avec Dumas, une diminution de la virulence de divers paratyphiques traités par les sels de terres rares (*Faits ayant reçu depuis ane application thérapeutique par Fenestre et Gérard* (1) et que sur le Bacille dysentérique, l'un de nous ait obtenu des résultats de même ordre. » (*Ceci fut le point de départ de nos recherches sur les bacilles de Shiga et de Flexner.*

Expériences. — *Action des sels de lanthane et de thorium sur la toxicité et la virulence du vibrion cholérique en injection intra-péritonéale chez le cobaye* :

1. Fenestre et Gérard, De l'action thérapeutique du sulfate de thorium dans les infections intestinales, *Paris Médical*, 1917, p. 398.

Témoins. — Dix cobayes injectés dans le péritoine avec 2 centimètres cubes d'émulsion bacillaire, soit un cinquième de culture sur gélose, sont morts en 6 à 8 heures.

Action du sulfate de lanthane. — Dix cobayes injectés dans le péritoine avec 4 centimètres cubes d'émulsion de vibrions cholériques traités par une solution à 2 p. 100 de sulfate de *lanthane*, soit deux fois la dose mortelle, ont *survécu*.

Action du sulfate de thorium. — Dix cobayes injectés avec 4 centimètres cubes d'émulsion de vibrions, traités par du sulfate de thorium, soit deux fois la dose mortelle, ont survécu. Dix autres cobayes injectés avec 7 centimètres cubes de l'émulsion précédente, soit trois fois et demie la dose mortelle en 8 heures ont survécu.

La phagocytose et la dissolution des vibrions dans le péritoine des cobayes est beaucoup plus rapide pour les cultures traitées par les sels.

Expériences sur les singes. — *Action thérapeutique des sels de lanthane et de thorium.*

Les auteurs de cette note ont fait ingérer à des singes suivant le modus faciendi de Pottevin et Violle, des cultures de *choléra*, après administration de 7 à 9 grammes de sulfate de soude et constatation de l'effet purgatif. Ils ont administré une culture entière de 24 heures sur boîte de Piétri de 9 centimètres de diamètre, émulsionnée dans 20 centimètres cubes d'une culture en bouillon de 24 heures. Six ou douze heures après, ils ont fait ingérer les solutions de sulfate de thorium ou de lanthane à 2 p. 100.

Résultats. — *Ingestion de lanthane ou de thorium après six heures.* — Deux cynomolgus ont ingéré 40 centimètres cubes de sulfate de thorium à 2 p. 100 six heures après l'ingestion de vibrions cholériques. Ils n'ont présenté aucun trouble; ont survécu.

Deux autres animaux traités par le sulfate de lanthane ont également survécu.

Les deux témoins, ayant reçu 40 centimètres cubes d'eau, c'est-à-dire la même quantité de liquide que les animaux traités, sont morts 30 à 36 heures après l'ingestion de la culture cholérique.

Ingestion de lanthane ou de thorium après douze heures. — Le traitement après douze heures par ces deux sels est plus efficace avec le *thorium* qu'avec le *lanthane*. Les deux animaux traités par ce dernier sel sont morts 38 et 44 heures après.

L'inocuité du *sulfate* de *thorium* par ingestion, ainsi que l'action *bactéricide* et *antiseptique* de ce sel, permettent de penser qu'il pourra être employé utilement dans le traitement du choléra.

En 1917, MM. Fenestre et Gérard publient les résultats de l'emploi thérapeutique du sulfate de thorium qu'ils ont essayé, d'après les indications de M. Frouin dans le traitement des fièvres typhoïdes à formes intestinales.

Le 25 Novembre 1914, le *Centralblatt für Bakteriologie* publie les travaux de M. Simonini (1) à Vienne.

Au cours des expériences exposées dans cette commu-

1. Simonini, *Centralblatt für Bakteriologie*, t. 74, p. 343, 1914.

nication, M. Simonini emploie notamment des milieux geloses add. d'un mélange de sels de terres rares. Les microbes cultivés sur ces milieux sont recueillis et précipités par des terres rares en solution à 1 et 2 p. 100.

Les microbes ainsi traités sont injectés à des animaux, pour en étudier la virulence et la toxicité.

Dans d'autres expériences, Simonini fait agir une solution à 2 p. 100 de nitrate de *thorium* sur des émulsions de bacilles cultivés sur des milieux gélosés non additionnés de terres rares. Il constate des modifications morphologiques, l'apparition de granulations dans la masse des bacilles, et le changement de caractère d'un certain nombre de ces bacilles vis-à-vis de la coloration au gram.

M. Simonini trouve une analogie entre les modifications morphologiques et les caractères de colorations qu'il a observés et ceux obtenus par Mme Henri, au moyen des rayons ultra-violets sur les microbes; dans un deuxième travail, il étudie le pouvoir bactéricide et antitoxique mais il ne cite pas les travaux des savants français, au sujet des terres rares et des microbes, antérieurs aux siens.

Il a étudié l'action du cérium du lanthane et du thorium sur un grand nombre de bactéries : B. typhiques B. paratyphiques, B. Flexner, B. de Krüse, B. de la diphtérie, B. subtilis, vibrions cholériques, vibrions de Massaouah, vibrion Metschnikowii, etc...

Au début de 1915, M. Simonini (1) donne les résultats

1. Simonini, *Centralblatt für Bakteriologie*, t. 75, 1914-1915 p. 399.

d'autres recherches sur l'action du *thorium* sur divers bacilles.

Le 26 Août 1918, dans leur note à l'Académie des Sciences, MM. Pierre Girard et René Audubert (1) attribuent certains effets biologiques du lanthane, par sa présence dans le milieu de culture ou dans une émulsion de microbes, aux décharges provoquées par ses sels des charges négatives dont sont pourvues les parois cellulaires des microbes.

Les microbes se comportant comme les grains d'une solution colloïdale, comme pour ces derniers les forces électriques agissant dans le sens d'un accroissement de surface sont une cause de dislocation, tandis que les forces de cohésion sont une cause d'agglutination.

Perrin cite le lanthane parmi les corps à ions positifs capables de décharger une paroi revêtue de charges négatives.

D'après MM. Girard et Audubert, il est possible de restaurer à la fois, l'état électrique de la paroi cellulaire et la dissémination des cellules agglutinées; il suffit après avoir agité l'agglutinat dans une solution renfermant des ions négatifs tri ou tétravalent (citrate ou ferrocyanure), de filtrer en s'aidant du vide, sur un filtre assez dense pour ne laisser passer que des microbes isolés. On obtient dans ces conditions une désagglutination parfaite.

Après avoir exposé leurs expériences sur les effets biologiques suivants : hypervégétation, survie de la

1. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, MM. Pierre Girard et René Audubert. t. CLXIII, p. 351, 1918.

cellule et résistance aux actions lytiques, effets antiseptiques, qui confirment dans leur ensemble les résultats que nous avons exposés, les auteurs de cette note concluent de la façon suivante :

« Il n'est pas douteux que, dans ces divers effets biologiques que détermine la présence des sels de lanthane dans le milieu de culture ou d'émulsion, seule intervient la décharge électrique de la paroi des microbes par les ions La $+++$, car, sans changer la concentration de ces ions dans le milieu, il suffit, par l'addition d'un nombre un peu supérieur d'ions négatifs trivalents, de neutraliser leur action électrique sur la paroi, pour que ces effets biologiques disparaissent du coup.

En résumé, il ressort des travaux que nous avons cités des faits importants établis par A. Frouin et ses collaborateurs et confirmés par Becquerel, Simonini, Fenestre et Gérard, Girard et Audubert : 1° Les sels de terres rares favorisent le développement des bactéries s'ils sont ajoutés à petites doses dans les milieux de culture. Ils arrêtent le développement des microbes s'ils sont employés aux concentrations de 1 à 2 p. 1000.

2° Ces sels ont une action bactéricide et antitoxique.

Quel est le mécanisme de ces actions?

Becquerel (1) étudiant les sels d'*uranium* et de *thorium* sur le Bacille *tuberculeux* admet sans en donner la démonstration que ces sels se comportent comme beaucoup de sels non radio-actifs.

(1) Becquerel, *C. R. Asc. de Sc.*, t. CLVI, p. 164, 1913.

En effet, nous ne pensons pas que l'on puisse invoquer seulement la radio-activité pour la production de la pyocyanine.

D'autres sels de terres rares non radio-actifs, et en particulier les sels de praséodyme, favorisent la production de la pyocyanine dans des milieux simples chimiquement définis et additionnés de magnésie (A. Frouin. Communication orale).

Quant à l'influence de ces sels sur le développement du B. tuberculeux, les résultats publiés par A. Frouin montrent que les sels d'erbium et d'yttrium, non radio-actifs, sont aussi favorisants que les sels de thorium.

Enfin nous voyons que MM. Pierre Girard et Audubert pensent que la précipitation des microbes par les sels de lanthane est due à la décharge électrique de la paroi des microbes par les ions La $+++$. Cette interprétation ne peut pas, à notre avis, être généralisée pour tous les sels de terres rares.

On peut mettre en parallèle de cette interprétation purement physique du mécanisme de l'agglutination des microbes par les sels de terres rares, une hypothèse purement chimique basée sur les propriétés générales de ces sels.

Les sels de terres rares agglutinent les globules sanguins; ils précipitent les matières albuminoïdes en solution neutre ou alcaline comme presque tous les sels des métaux lourds et s'opposent à la précipitation et même à la coagulation de ces mêmes matières albuminoïdes par la chaleur en milieu acide.

Les actions différentes de ces sels que nous avons déjà signalées sur les propriétés biologiques des microbes et sur leur pouvoir végétatif montrent au contraire qu'il y a des différences d'actions et des spécificités.

BIBLIOGRAPHIE
des méthodes de séparation et de fractionnement des oxydes rares.

Auer Von Welsbach. -- *Monat. für chem.* Sur les terres de la gadolinite (vol. IV n° 7 ; vol. V, n° 1, 1884). Sur les terres de la cérite (vol. V, n° 8, 1884).

Bahr et Bunsen. — Sur l'erbine et l'yttria. (*Ann. der Chem. und Pharm.*, t. CXXXVII (1), 1886.

Bettendorff. — Traitement de l'orthite d'Hitteroë. *Liebig's Ann.*, t. CCLVI, p. 159).

Boudouard. — Sur les terres du groupe yttrique. (*Bull. Soc. Chim.* (3), t. XIX p. 227-236. Sur le néodyme. (*Bull. Soc. Chim.* (3), t. XIX p. 382).

Bunsen. — Séparation des oxydes de Di et La. (*Ann. der Chem. und Pharm.*, t. LXXXVI, p. 285 ; t. CV, p. 40.

Berlin. — Séparation des oxydes de la cérité (thèse). Göttingen, 1864.

Brauner. — Contribution à la chimie des métaux de la cérite. (*Journ. of the Chem. Soc.*, 1882, p. 68 et 1883 p. 278).

Cleve. — Contribution à la chimie des métaux rares. Lanthane, didyme. (*Bull. Soc. Chim.*, série 2 ; t. XXI, p. 196 et 246 ; t. XXIX, p. 492 ; t. XXXIX, p. 151 et 289). Yttrium et erbium (série 2, t. XXI, p. 344 ; t. XXXIX, p. 121. *Comptes Rendus*, t. XCIV, p. 1528 ; t. XCV, p. 33).

Cleve et Hœglund. — Contribution à la chimie des métaux rares. Yttrium-Erbium. (*Bull. Soc. Chim.*, série 2, t. XVIII, p. 193 et 289).

Czudnowicz. — Contribution à la connaissance du cérium. (*Journ. für prak. Chem.*, t. LXXX, p. 16).

Damour et Sainte-Claire Deville. — Analyse de la parysite. (*C. R.*, t. LIX, p. 272 ; t. LXXXII, p. 277).

Debray. — Préparation de l'oxyde de cérium. (*Comptes rendus*, t. XCVI, p. 828).

Delafontaine. — Sur les métaux de la cérite et de la gadolinite. (*Arch. des Sci. phy. et nat.*, t. XXI, p. 97 ; t. XXII, p. 38. *Comptes Rendus*, t. LXXXVII, p. 559. *Chem. News*, t. CLXXV, p. 229, 1897).

Dennis et Chamot. — Contribution à l'histoire du didyme. (*Journ. of Amer. Chem. Soc.*, 1897).

Drossbach. — Sur les éléments constitutifs de la monazite. (*Deut. chem. Gesells.*, t. XXIX, p. 2452. *Journal für Gasbeleuchtung*, t. XXXVIII, p. 581).

Erk. — Sur les métaux de la cérite. (*Zeits. für Chem.* (2), t. VII, p. 100).

Frerichs. — Séparation du lanthane et du didyme. (*Zeits. für analy. Chem.*, t. XII, p. 217).

Gibbs. — Séparation du Ce., La., Di. (*Zeitsch. für analy. Chem.*, t. III, p. 396).

Holzmann. — Sur quelques sels de Ce et La. (*Journ. prakt. Chem.*, t. LXXV, p. 321).

Jolin. — Le cérium et ses composés. (*Bull. Soc. Chim.* (2), t. XXI, p. 533.

Lecoq de Boisbaudran. — *Comp. Rendus.* t. CII p. 902 ; t. CVIII p. 165 ; t. CXI p. 393 et 472.

Marignac. — Recherches sur le Ce, La, Di. (*Ann. Chim. Phy.*) (3), t. XXVII, p. 209 ; t. XXXVIII, p. 148 ; t. XLVI, p. 193.

Mosander. — Recherches sur le cérium. (*Ann. de Poggendorf*, t. XLVI, p. 207 ; t. LVI, p. 503).

Pattinson et Clarke. — Séparation du Ce, La, Di. (*Chemi. News.*, t. XVI p. 259).

Schutzenberger. — Sur les métaux de la cérite. (*Comp. Rendus*, t. CXX, p. 1143).

Schutzenberger et Boudouard. — Sur les terres contenues dans les sables monazités. (*Comptes-Rendus*, t. CXXII et CXXIII).

Truchot. — Les terres rares, 1898.

G. Urbain. — Nouvelles méthodes de fractionnement des terres yttriques. (*Comptes-Rendus*, t. CVII, p. 835).

Urbain et Budischowsky. — Sur les terres du groupe yttrique contenus dans les sables monoazités. (*Comptes-Rendus*, t. CXXIII).

Watts. — Séparation du Ce, La, Di. (*Journ. of Chem. Soc.*, t. II p. 131).

Winkler (Cl.). — Séparation du Ce, La, Di. (*Zeitsch. für analy. Chem.*, t. IV, p. 417).

Wyrouboff et Verneuil. — Sur la purification et le poids atomique du cérium. (*Bull. de la Soc. Ch.* (3), t. XVII, p. 679).

Zschiesche. — Expérience sur les sels de la cérite. (*Zeitsch. für. analy. Chem.*, t. IX p. 841).

PREMIÈRE PARTIE

ACTIONS DE QUELQUES TERRES RARES SUR LE BACILLE PYOCYANIQUE

Historique et propriétés biologiques.

On sait depuis longtemps que la coloration bleue des linges de pansement, observée fréquemment dans les hôpitaux, est due à la présence dans le pus, d'une bactérie spéciale qui a la particularité de secréter un pigment bleu que Fordos (1) isola en 1869.

Une étude très complète en a été faite par Gessard (2).

D'autres recherches de Charrin (3), de Wasserzug (4) ont mis en lumière les rapports qui existent entre le pigment bleu et la bactérie.

Le bacille pyocyanique est un court bâtonnet à extrémités arrondies de 1 μ à 1 μ 1/2 de long sur 0 μ 5 à 0 μ 6 de large.

1. Fordos, *C. R. de l'Acad. des Sciences.* Recherches sur la matière colorante du pus bleu, 1869, page 215.
2. Gessard, Thèse de Paris, 1882. De la pyocyanine et de son microbe.
3. Charrin, *Société anatomique,* Décembre 1884; *Société de Biologie,* 1887, 1888, 1889 et 1890.
4. Wasserzug, Sur la formation de la matière colorante chez le B. Pyocyanique, *An. de l'Institut Pasteur*, t. I, 1887, N° 12.

En 1887, Guignard et Charrin (1) ont étudié les modifications morphologiques de ce microbe en présence de quelques antiseptiques.

Leur travail, sur ce sujet, est devenu classique depuis.

L'addition d'acides et d'antiseptiques divers fait disparaître la production du pigment dès que la dose est suffisante pour diminuer le pouvoir végétatif du B. pyocyanique.

Nous devons rappeler que la production du pigment est indépendante du pouvoir végétatif. Gessard a obtenu des races de B. pyocyaniques ne donnant que du pigment jaune ou du pigment mélanique.

A. Frouin et Mlle Ledebt ont obtenu une culture très abondante de B. pyocyaniques avec disparition des pigments en ajoutant du vanadate de soude au milieu de culture.

Résistance à l'action des antiseptiques. — D'une façon générale, on peut considérer ce microbe comme résistant assez bien aux antiseptiques habituels. Il faut des doses convenables de substances actives et un contact de quelque durée pour obtenir la destruction certaine.

Le Bacille pyocyanique se développe facilement dans le bouillon phéniqué à 1 p. 1000 et même à 1,25 p. 1000.

Inoculation chez le cobaye. — En inoculant une petite quantité sous la peau, il se développe une tuméfaction à laquelle fait suite une ulcération rougeâtre

1. Guignard et Charrin, Sur les variations morphologiques des microbes. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. CV p. 1192, 1887.

plus ou moins desséchée, en quelque sorte gommeuse ; si la quantité de culture dépasse un centimètre cube ou si le microbe est très virulent, la maladie se généralise et la mort peut survenir.

En inoculation intra-péritonéale, la mort survient rapidement avec des doses moindres (1).

1. Macé, *Traité pratique de bactériologie*, t. II, page 344, 1913.

CHAPITRE PREMIER

ACTIONS DES TERRES RARES ADDITIONNÉES AUX MILIEUX DE CULTURE, SUR LE BACILLE PYOCYANIQUE

Nous avons cultivé du Bacille pyocyanique en présence de sels de terres rares dans deux milieux : liquide et solide.

Dans le premier milieu, nous avons étudié l'action de différentes doses de sels de terres rares : dose activante ; dose maxima permettant la multiplication du Bacille et la production du pigment bleu.

Sur le milieu solide, nous avons étudié la virulence des bacilles cultivés en présence d'une dose moyenne de sel de terres rares.

§ 1. — Culture sur milieu liquide.

Le milieu employé est constitué par l'ensemble des acides aminés provenant de l'hydrolyse du sérum, indiqué par M. Frouin comme milieu de culture très général et particulièrement favorable à la culture du

Bacille pyocyanique et la production du pigment bleu de ce microbe (1).

Le sérum hydrolysé que nous avons employé a été préparé de la façon suivante :

Sérum normal de cheval.	1 litre
Acide sulfurique pur	250 gr.

Ce mélange est placé dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant, et, porté à l'ébullition dans un bain-marie d'huile.

On fait bouillir jusqu'à la disparition complète de l'albumine qu'on recherche par la réaction du biuret.

On dilue ensuite dans cinq parties d'eau distillée et on traite par la baryte jusqu'à réaction faiblement acide.

On filtre et on évapore dans le vide jusqu'à l'obtention du volume initial du sérum.

Pour préparer le milieu liquide que nous voulons additionner de sels de terres rares, nous prenons :

Sérum hydrolysé.	150 cm³
Phosphate bipotassique	1 gr.
Sulfate de magnésie	1 gr.
Eau distillée q. s. p.	1.000 cm³

Nous alcalinisons, très légèrement, avec une solution au dixième de carbonate de soude.

Nous filtrons sur papier et nous divisons le litre de milieu en cinq parties égales.

Une partie sert de milieu témoin.

1. *Compte-Rendu de la Soc. de Biologie*, t. LXVIII, 1910, page 811.

Les quatre autres parties sont additionnées chacune d'un sel de terre rare.

La quantité de sel ajoutée est variable selon la proportion que l'on veut obtenir.

Ces divers milieux sont ensuite distribués dans des tubes à essais (10 cm^3 par tube) et stérilisés à 115°.

Nous avons préparé ainsi des milieux contenant différentes doses de terres rares.

Milieux contenant 1 p. 10.000 de sels de terres rares.

A cette dose, les sels de terres rares employés : sulfates de *lanthane*, de *thorium*, d'*erbium* et d'*yttrium*, ont *tous* une *action activante* sur la multiplication du Bacille pyocyanique.

Une série de tubes ensemencés avec du Bacille pyocyanique et placés à l'étuve à 37° nous a donné les résultats suivants au bout de 24 heures :

1° Culture plus abondante dans les milieux contenant chacun un sel de terre rare, que dans le milieu témoin.

2° Les tubes contenant du sulfate de lanthane ou du thorium sont plus colorés que les deux tubes contenant de l'erbium ou de l'yttrium et que le tube témoin.

3° Au bout de plusieurs passages sur les mêmes milieux, les résultats obtenus sont de même ordre.

Au point de vue *morphologique*, la forme des bacilles pyocyaniques cultivés sur ces divers milieux se différenciaient peu de ceux cultivés sur le milieu témoin sauf pour le *lanthane* où les bacilles sont moins gros et plus longs que dans le milieu témoin.

Doses maxima de sels de terres rares permettant la culture du B. pyocyanique.

Nous savons que ce bacille est d'une façon générale, très résistant à l'action des antiseptiques et qu'il cultive facilement dans un milieu contenant 1 p. 1.000 et même 1,25 p. 1.000 d'acide phénique.

M. Frouin (1) a déjà cultivé du Bacille pyocyanique sur un milieu contenant 1 p. 1.000 de sulfate de lanthane ou de thorium. L'intention de l'auteur était, nous l'avons vu, de savoir si ces sels pouvaient remplacer la magnésie dans le milieu de culture, cette dernière étant nécessaire au Bacille pyocyanique pour la production du pigment qui le caractérise.

Notre expérience, faite dans le but de déterminer les doses maxima de sels de terres rares permettant la multiplication du Bacille pyocyanique, ne nous a pas permis de dépasser la dose de 1 p. 1.000 pour les sels de *thorium* et de *lanthane*. Les deux autres sels ont une action empêchante encore plus forte.

On ne peut dépasser la dose de 1 p. 3.000 pour le sulfate d'*erbium* et de 1 p. 2.000 pour le sulfate d'*yttrium*.

Les doses maxima sont donc les suivantes :

Sulfate de Lanthane.	1 p. 1.000
— Thorium	1 p. 1.000
— Yttrium	1 p. 2.000
— Erbium.	1 p. 3.000

1. M. Albert Frouin et Mlle S. Ledebt, *C. R. de la Soc. de Biologie*, t. LXXII, p. 981.

Ces doses n'empêchent pas la production du pigment.

Le développement extrêmement ralenti tout d'abord devient de plus en plus abondant par transplantations successives sur les mêmes milieux. Il y a donc accoutumance.

§ II. — Atténuation de la virulence du B. pyocyanique cultivé sur un milieu contenant des sels de terres rares.

Le bacille pyocyanique, injecté dans le *péritoine du cobaye*, le tue rapidement.

Nous avons cherché à savoir si cette virulence ne se trouvait pas modifiée en cultivant ce bacille sur un milieu de culture, contenant des sels de terres rares.

Nous avons fait nos expériences sur milieux solides, *à la gelose*, nous avons employé soit le milieu à acides aminés, soit le bouillon de veau peptoné.

Le milieu à acides aminés était préparé en dissolvant 2 gr. 5 p. 100 de gélose lavée, dans le milieu indiqué précédemment et additionné des sels suivants : sulfates d'erbium, de lanthane, de thorium et d'yttrium.

Voici comment nous avons préparé le milieu au bouillon de veau :

Nous avons pris 500 grammes de veau dégraissée, hachée et mise à macérer à basse température pendant vingt-quatre heures dans un litre d'eau.

Nous avons ensuite passé et exprimé dans un linge,

chauffé jusqu'à ébullition et fait dissoudre dix grammes de peptone sèche.

Le bouillon, une fois refroidi, est passé sur un filtre mouillé pour le débarrasser de la graisse qu'il peut contenir.

Nous prenons d'autre part 25 grammes de gélose que nous mettons à macérer dans de l'eau acidulée à l'acide chlorhydrique.

Cette gélose ensuite lavée à l'eau est mise à gonfler dans de l'eau ammoniacale. Elle est lavée de nouveau à l'eau, exprimée dans un linge, et additionnée au bouillon de veau peptoné. Le tout est porté au bain-marie jusqu'à dissolution complète de la gélose.

Le bouillon gélosé ainsi obtenu a été légèrement alcalinisé et filtré à l'autoclave à 100°.

Nous ramenons le volume de ce bouillon à un litre; en maintenant le bouillon à chaud, nous le divisons en cinq parties égales.

Une partie sert de milieu témoin.

Les 4 autres sont additionnées chacune de 0 gr. 04 d'un des 4 sels de terres rares employées, soit 2 centimètres cubes d'une solution à 2 pour 100, pour 200 centimètres cubes de milieu.

La proportion des sulfates de lanthane, de thorium, d'erbium et d'yttrium ainsi additionnée est de 1 pour 5 000.

Ces milieux sont distribués dans des tubes à essais (5 centimètres cubes par tube) bouchés au coton cardé et stérilisés.

Les tubes sont ensuite inclinés soigneusement, de

façon à obtenir une surface aussi égale que possible, des milieux de culture contenus dans les divers tubes.

La dose de 1 p. 5.000, de sels de terres rares pour le milieu, se trouvant entre la dose favorisante (1 p. 10.000) et les doses empêchantes, permet *d'obtenir* avec le bacille pyocyanique, *des cultures aussi abondantes que dans le milieu témoin* au bout de 24 heures à l'étuve à 37°. C'est la raison pour laquelle nous l'avons adoptée pour l'étude comparative de la virulence du bacille pyocyanique cultivé en présence de différents sels de terres rares.

Nous prenons pour chaque expérience une série de tubes formée : d'un tube de milieu témoin, et de quatre autres tubes contenant chacun un sel différent de terres rares.

Ces milieux sont ensemencés sur toute leur surface avec du Bacille pyocyanique (échantillon provenant de l'Institut Pasteur).

Après 24 heures à l'étuve, à 37°, nous obtenons une culture très homogène dans tous ces tubes.

La culture obtenue dans chaque tube est émulsionnée avec dix centimètres cubes d'eau physiologique, stérilisée, en opérant de la façon suivante :

Nous préparons des pipettes effilées, à boules, stériles; une pipette pour chaque tube de culture.

Dans chacun de ces tubes nous versons *dix centimètres cubes* d'eau physiologique stérile, au moyen d'une éprouvette bouillie ou d'une pipette graduée stérile.

Au moyen d'une pipette à boule, munie d'un tube en caoutchouc, nous aspirons la quantité de liquide que

nous avons versée sur la culture et nous la projetons de nouveau sur la surface de la gélose en raclant doucement la culture avec le bout effilé de la pipette.

Les émulsions ainsi obtenues, sont placées, chacune dans un tube stérile, et prêtes à servir pour l'inoculation des cobayes.

Les injections de ces émulsions ont toujours été faites dans le péritoine au moyen d'une seringue en verre munie d'une aiguille ordinaire, en traversant perpendiculairement les parties molles jusqu'à la séreuse et en glissant ensuite l'aiguille le long du péritoine pariétal.

Voici les expériences faites et les résultats obtenus par injection de différentes quantités d'émulsion de B. pyocyanique : cultivé dans un milieu témoin et en présence de sels de terres rares.

1re expérience. — Injection de 0 cm³ 10 d'une émulsion à 10 cm³ par tube de culture.

Numéro du cobaye	Poids en gr.	Sel additionné au milieu	Résultat
69	580 gr.	Erbium (sulf.)	survit
64	620 gr.	Lanthane (sulf.)	survit
70	480 gr.	Thorium (sulf.)	survit
57	510 gr.	Yttrium (sulf.)	survit
63	740 gr.	témoin	survit

2e *expérience.* — Injection de 0 cm³ 15 d'une émulsion à 10 cm³ par tube de culture.

Numéro du cobaye	Poids en gr.	Sel additionné au milieu	Résultat
41	650 gr.	Erbium (sulf.)	survit
51	780 gr.	Lanthane (sulf.)	survit
40	580 gr.	Thorium (sulf.)	survit
47	450 gr.	Yttrium (sulf.)	survit
35	750 gr.	témoin	meurt

3e *expérience.* — Injection de 0 cm³ 20 d'une émulsion à 10 cm³ par tube de culture.

Numéro du cobaye	Poids en gr.	Sel additionné au milieu	Résultat
76	490 gr.	Erbium (sulf.)	survit
81	445 gr.	Lanthane (sulf.)	meurt
91	380 gr.	Thorium (sulf.)	meurt
83	410 gr.	Yttrium (sulf.)	survit
68	370 gr.	témoin	meurt

4e *expérience.* — Injection de 0 cm³ 25 d'émulsion à 10 cm³ par tube de culture.

Numéro du cobaye	Poids en gr.	Sel additionné au milieu	Résultat
86	375 gr.	Erbium (sulf.)	survit
84	410 gr.	Lanthane (sulf.)	meurt
87	350 gr.	Thorium (sulf.)	meurt
80	360 gr.	Yttrium (sulf.)	survit
82	360 gr.	témoin	meurt

5e *expérience.* — Injection de 0 cm³ 50 d'émulsion à 10 cm³ par tube de culture.

Numéro du cobaye	Poids en gr.	Sel additionné au milieu	Résultat
66	520 gr.	Yttrium (sulf.)	meurt
46	450 gr.	Erbium (sulf.)	meurt
61	375 gr.	Lanthane (sulf.)	meurt
85	400 gr.	Thorium (sulf.)	meurt
27	520 gr.	témoin	meurt

En résumé, les sulfates d'erbium et d'yttrium ajoutés au milieu de culture dans la proportion de 1 p. 5.000 atténuent la virulence du Bacille pyocyanique plus que les sulfates de lanthane et de thorium.

Le bacille, cultivé en présence de ces derniers sels, est cependant moins virulent que celui cultivé sur milieu simple.

Nous ferons remarquer ici qu'il n'y a pas de parallélisme entre la virulence du bacille et la production de son pigment.

En effet, les sels de lanthane et de thorium augmentent la production du pigment et diminuent la virulence du bacille. Les sels d'erbium et d'yttrium qui n'augmentent la production du pigment que dans des proportions très faibles diminuent aussi la virulence du bacille.

CHAPITRE DEUXIÈME

ACTIONS DES SOLUTIONS DE SELS DE TERRES RARES SUR LE BACILLE PYOCYANIQUE EN ÉMULSION DANS DE L'EAU PHYSIOLOGIQUE

Dans ce chapitre nous exposerons les résultats de nos recherches sur :

1° Le pouvoir agglutinant des sulfates d'erbium, de lanthane, de thorium et d'yttrium sur le Bacille pyocyanique.

2° Le pouvoir bactéricide de ces sels sur ce Bacille.

3° L'action anti-virulente de ces mêmes sels sur le Bacille pyocyanique en émulsion : inoculation expérimentale.

4° Immunisation de cobayes vis-à-vis du Bacille pyocyanique par injection d'émulsions de ce microbe atténuées par le contact du sulfate de lanthane et du sulfate de thorium.

5° Propriétés acquises par le sérum des cobayes immunisés au point de vue de l'agglutination et du pouvoir immunisant vis-à-vis du Bacille pyocyanique.

§ I. — Pouvoir agglutinant des Sulfates d'erbium, de lanthane, de thorium et d'yttrium sur le Bacille pyocyanique

Nous avons ensemencé du Bacille pyocyanique, (Echantillon provenant de l'Institut Pasteur) sur du bouillon de veau, gélosé et peptoné en tubes inclinés ou sur milieu à acides aminés.

Les cultures obtenues au bout de 24 heures à l'étuve à 37° ont été émulsionnées dans de l'eau physiologique stérilisées, par la méthode que nous avons déjà indiquée (Chapitre premier § II).

Le volume de l'émulsion bactérienne est ramené à 50 centimètres cubes pour un tube de culture.

Cette émulsion, ainsi diluée est répartie dans des petits tubes; dits tubes à hémolyse: un centimètre cube par tube.

A chaque centimètre cube d'émulsion nous ajoutons un centimètre cube d'une solution d'un sel de terre rare; à différentes dilutions.

Les solutions de terres rares préparées à cet usage sont faites dans de l'eau physiologique.

Les dilutions employées sont les suivantes: 1 p. 500; 1 p. 1.000, 1 p. 2.000; 1 p. 4.000; 1 p. 8.000; 1 p. 16.000; 1 p. 32.000.

En ajoutant un centimètre cube de ces solutions sur un centimètre cube d'émulsion bactérienne; la dilution est doublée. C'est cette dernière, qui est indiquée dans le tableau ci-après.

Le mélange fait; les tubes sont placés à l'étuve à 37° et l'agglutination produite est observée après 2 heures et au bout de 24 heures.

Expérience. — Agglutination du B. pyocyanique par les terres rares.

Proportion de sel dans le mélange	1/1.000	1/2.000	1/4.000	1/8.000	1/16.000	1/32.000	1/64.000
Erbium (sulf.)	totale en 2 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	8/10 en 24 h.	5/10 en 24 h.
Lanthane (sulf.)	totale en 2 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	9/10 en 24 h.	5/10 en 24 h.
Thorium (sulf.)	totale en 2 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	9/10 en 24 h.	7/10 en 24 h.	nulle en 24 h.
Yttrium (sulf.)	totale en 2 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	8/10 en 24 h.	5/10 en 24 h.

§ II. — Pouvoir bactéricide des sels de terres rares sur le bacille pyocyanique en émulsion.

Nous avons cultivé du B. pyocyanique sur de la gélose peptonée.

La culture âgée de 24 heures (à l'étuve à 37°) a été émulsionnée, par le procédé que nous avons indiqué précédemment, dans de l'eau physiologique; 10 centimètres cubes par tube de culture.

Nous préparons cinq émulsions semblables.

Une émulsion sert de témoin.

Les quatre autres sont additionnées, chacune avec un volume égal d'une solution à 2 p. 100 d'un des sels de terres rares suivants : *sulfates de Lanthane*, de *Thorium*, d'*Erbuim* et d'*Yttrium*.

Le mélange de l'émulsion microbienne avec un volume égal d'une solution à 2 p. 100 d'un sel de terre rare, ramène la proportion de ce sel à 1 p. 100.

Les microbes sont agglutinés et précipités au fond des tubes presqu'instantanément.

Après un contact de 48 heures, nous décantons les liquides; les dépôts microbiens sont émulsionnés avec l'eau physiologique, centrifugés, le liquide est décanté, et remplacé par une nouvelle quantité d'eau physiologique pour enlever toutes traces de sel de terre rare employé.

Les bacilles pyocyaniques ainsi traités, sont ensemencés sur du bouillon de veau gélosé, peptoné; et placés à l'étuve à 37°. (L'ensemencement est fait sur toute la surface du milieu).

Au bout de quarante-huit heures à l'étuve nous observons les tubes de gélose ensemencés avec du bacille pyocyanique traité par les différents sels.

Voici les résultats que nous avons relevés, en prenant comme terme de comparaison la proportion, de surface, couverte par les colonies microbiennes, à celle qui a été ensemencée. L'ensemencement a été fait avec une anse de platine pour chaque tube.

Semence traitée par le sulfate de lanthane $\frac{6}{10}$ de la surface

— — — d'yttrium $\frac{5}{10}$ —

— — — d'erbium $\frac{1}{10}$ —

— — — de thorium 0 —

— témoin $\frac{10}{10}$ —

Nous trouvons que l'action bactéricide du sulfate de Thorium est la plus forte et rend, au bout de 48 heures, l'émulsion microbienne stérile.

Nous avons essayé de diminuer la durée de l'action de ce sel sur l'émulsion du Bacille pyocyanique :

Au bout d'une demi-heure de contact les microbes ne cultivent plus sur la gélose peptonée.

Avec les semences traitées par les trois autres sels de terres rares les cultures que l'on obtient sont pigmentées.

Au point de vue morphologique, les bacilles de ces différentes cultures avaient la même forme que les bacilles de la culture témoin.

Nota. — Nous nous sommes servi d'émulsions de Bacilles pyocyaniques traités par les sels de terres rares pour les injecter à des cobayes, afin de les immuniser vis-à-vis de ce microbe Nous avons cherché à savoir si les bacilles traités par ces sels étaient morts ou vivants. C'est ce qui nous a amené à étudier l'action bactéricide des sels de terres rares que nous avons employés pour atténuer la toxicité et la virulence du Bacille pyocyanique.

§ III. — Action antivirulente et antitoxique des sels de terres rares sur le Bacille pyocyanique.

En 1914, MM. Frouin et Roudsky (1) s'étaient servi de solutions de sel de lanthane et de thorium pour atténuer la toxicité et la virulence du vibrion cholérique. Les émulsions microbiennes, traitées par des solutions à 1 ou 2 pour 100 de sulfate de lanthane ou de thorium, pouvaient être injectées au cobaye à des doses trois fois plus grande que la dose mortelle sans le tuer. Il nous a paru intéressant d'étudier l'action atténuante de quelques sels sur le Bacille pyocyanique.

Voici comment nous avons opéré :

Nous ensemençons cinq tubes de gélose peptonée avec du bacille pyocyanique.

Les tubes ont été choisis d'un calibre tel que tous les milieux de culture présentent une surface égale.

L'ensemencement a été fait sur toute la surface.

Les tubes sont ensuite mis à l'étuve à 37°. Nous obtenons au bout de 24 heures des cultures couvrant toute la surface du milieu. Nous émulsionnons ces cultures avec de l'eau physiologique, par le procédé que nous avons déjà indiqué (Voir : Chapitre Ier, § II).

La quantité d'eau physiologique employée pour chaque tube de culture était de 10 centimètres cubes.

Des émulsions ainsi obtenues sont additionnées chacune d'un volume égal d'une solution à 2 p. 100 d'un des

1. MM. Albert Frouin et D. Roudsky. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, t. CLXIX, page 410, séance du 10 Août 1914.

sels suivants : sulfates de lanthane, de thorium, d'erbium et d'yttrium.

Ce mélange contient donc 1 p. 100 du sel de terre rare employé.

Un tube d'émulsion n'est pas additionné de terres rares et sert de témoin.

Les émulsions microbiennes additionnées de solutions de terres rares et l'émulsion témoin, sont placées à la glacière durant 48 heures.

Les émulsions sont ensuite centrifugées, les liquides décantés, et les dépôts microbiens remis en suspension dans de l'eau physiologique, sont centrifugés de nouveau, à deux reprises.

Les dépôts de bacilles provenant de la troisième centrifugation et ainsi débarrassés des terres rares, sont mis, une dernière fois, en suspension chacun dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique.

Nous avons constaté au courant des expériences précédentes, que les émulsions de bacilles pyocyaniques cultivées sur gélose et bouillon de veau peptoné, tuaient le cobaye à la dose de 0 cm^3 20. (Voir chapitre I § II). Il s'agissait de bacilles non traités par des solutions de terres rares.

Nous injectons dans une première expérience deux centimètres cubes d'émulsions de bacilles traités par les solutions de terres rares, soit, dix fois la dose mortelle.

Ces injections ont été faites dans le péritoine des cobayes, au moyen d'une seringue en verre munie de son aiguille, et stérilisée.

Cette seringue est stérilisée après chaque injection de microbes traités différemment.

Voici les résultats de cette expérience :

N° du Cobaye	Poids en grammes		Résultats 24 h. après l'injection
71	310	Inject. avec 2 cc. d'émulsion de bacilles traités avec	Erbium, meurt.
76	490	— — — —	Erbium, meurt.
73	390	— — — —	Lanthane, *survit.*
59	480	— — — —	Lanthane, *survit.*
46	388	— — — —	Thorium, *survit.*
62	480	— — — —	Thorium, *survit.*
72	390	— — — —	Yttrium, meurt.
83	500	— — — —	Yttrium, meurt.
68	490	Inject. avec 0 cc. 50 d'émulsion de bacilles. . .	témoin, meurt.

Il apparaît nettement, d'après les résultats de cette expérience, que les sulfates de lanthane et de thorium ont une action antitoxique et antivirulente plus forte que les sulfates d'erbium et d'yttrium.

Toutefois, les cobayes, qui ont survécu, ont subi dans la suite une perte de poids considérable et sont morts au bout d'un temps plus ou moins long : dix à vingt jours après l'injection.

Nous en concluons que si nous voulons obtenir l'immunisation des cobayes il est nécessaire de commencer par injecter des doses moindres d'émulsions de Bacilles pyocyaniques traités par le sulfate de lanthane ou de thorium. Un centimètre cube au lieu de deux, soit cinq fois la dose mortelle, de bacilles non atténués.

D'autre part, fait important à signaler, nous avons vu que le sulfate de lanthane est moins bactéricide que les sulfates d'erbium et d'yttrium (voir le § II de ce

chapitre); malgré cela, les émulsions de microbes traités par le lanthane sont moins nocives que les émulsions des mêmes microbes traités par les deux autres sels, par conséquent : *La nocivité des émulsions bactériennes traitées par les sels de terres rares n'est pas liée seulement à l'action bactéricide de chaque sel; autrement dit, à la stérilité des émulsions injectées mais, il y a de plus une action antitoxique.*

§ IV. — Immunisation de cobayes vis-a-vis du Bacille pyocyanique par injection d'émulsions de ce bacille traité par du sulfate de lanthane ou de thorium

Nous avons fait agir des solutions de sulfate de lanthane et de sulfate de thorium, sur deux émulsions de Bacilles pyocyaniques avec les mêmes doses et la même durée de temps que dans l'expérience précédente. (Chapitre II, § III).

Les bacilles traités par les solutions de terres rares, centrifugés, lavés à l'eau physiologique et remis en suspension dans 10 centimètres cubes d'eau salée stérilisée par tube de culture, ont été injectées à des cobayes.

Expérience. — Nous avons injecté : 1° un cobaye témoin avec 0 cm³ 5 d'une émulsion de Bacilles pyocyaniques non traités par les sels de terres rares.

2° Deux cobayes avec 1 centimètre cube chacun d'une émulsion de Bacilles Pyocianique traités par du sulfate de lanthane.

3° Deux cobayes avec 1 centimètre cube chacun d'une

émulsion de Bacilles Pyocianique traités par du sulfate de thorium.

Ces injections sont toujours intrapéritonéales.

N° du Cobaye	Poids en grammes					
1°	93	570	Inject. avec	0 cc³ 50	d'émulsion	Témoin, meurt.
2°	100	525	—	1 —	— traitée avec	Lanth., survit.
	92	660	—	1 —	— —	Lanth., survit.
3°	82	535	—	1 —	— —	Thorium, survit.
	94	520	—	1 —	— —	Thorium, suvirt.

Résultat. — Le témoin meurt dans les 24 heures qui suivent l'injection. Tous les autres survivent, et au bout d'une semaine, ils n'ont pas perdu de leur poids.

Nous les injectons de nouveau avec 1 cm³ 5 chacun d'émulsions de Bacilles pyocyaniques identiques aux précédentes. Ils survivent également en augmentant de poids : 10 à 20 grammes chacun, en sept jours.

Il leur a été fait au bout de ce temps, une nouvelle injection de 2 centimètres cubes et dix jours après une autre injection de 3 centimètres cubes.

Ils survivent tous avec une légère augmentation de poids.

Dix jours après la dernière injection, nous prenons à chacun de ces cobayes 4 centimètres cubes de sang, dans le cœur au moyen d'une seringue en verre, munie d'une aiguille ordinaire.

Ce sang, reçu aseptiquement dans des tubes stériles, a été placé à la glacière durant 48 heures; nous décantons le sérum qui s'est séparé du caillot au moyen de pipettes effilées, stériles.

Le sérum de chacun de ces cobayes est placé dans un tube stérile et mis à la glacière pour servir aux expériences que nous exposons dans les pages suivantes.

Les cobayes, ainsi partiellement saignés, ont servi à l'épreuve suivante; après dix jours de repos :

Expérience. — Injection intrapéritonéale d'une émulsion virulente de B. pyocyanique.

N° du Cobaye			
100	(immunisé par inj. de B. pyocy. traité au Lanth.)	2 cc,	survit.
92	— — — —	Lanth., 2 —	survit.
82	— — — —	Thor., 2 —	survit.
92	— — — —	Thor., 2 —	survit.
19	Témoin (non immunisé).	0 cc, 5	meurt.

Nous concluons de cette expérience que les cobayes injectés avec des émulsions de Bacilles pyocyaniques atténués par le traitement avec les sulfates de lanthane et de thorium, sont rapidement immunisés vis-à-vis des émulsions virulentes de Bacilles pyocyaniques, et supportent sans diminution de poids, des doses plusieurs fois mortelles, de ce bacille.

§ V. — Propriétés agglutinantes et immunisantes du sérum des cobayes injectés de Bacilles pyocyaniques atténués par l'action de terres rares.

1°) *Action agglutinante.*

Nous savons que le sérum du cobaye normal, n'a aucune action agglutinante sur le B. pyocyanique.

Nous avons cherché à savoir, dans quelles proportions le sérum des cobayes que nous avons immunisés, par ce procédé, pouvaient agglutiner ce bacille.

Les sérums que nous avons recueillis comme nous l'avons indiqué (voir § IV de ce chapitre) nous ont servi pour évaluer ce pouvoir agglutinant.

Nous prenons pour cela un sérum de cobaye injecté avec du B. pyocyanique traité au lanthane; et un sérum de cobaye injecté avec du B. pyocyanique traité au thorium.

Nous les diluons avec de l'eau physiologique stérilisée dons les proportions suivantes : 1 p. 50; 1 p. 100; 1 p. 250; 1 p. 500; 1 p. 1.000; 1 p. 2.000; 1 p. 4.000 1 p. 8.000.

En mettant un centimètre cube de ces dilutions avec un centimètre cube d'une émulsion de microbes; la proportion de sérum est deux fois moindre relativement au volume. C'est cette dilution que nous indiquerons dans l'expérience suivante.

Nous préparons, d'autre part, une émulsion de B. pyocyanique pareille à celle qui nous a servi pour étudier l'agglutination par les sels de terres rares (voir le § I de ce chapitre).

Nous distribuons cette émulsion dans des petits tubes à essais, un centimètre cube par tube.

Dans chacun de ces tubes nous ajoutons un centimètre cube de sérum dilué.

Les mélanges sont ensuite placés à l'étuve à 37 degrés et l'agglutination produite est observée au bout de 2 heures et de 24 heures.

Expérience. — Agglutination du Pyocyanique par le

1/100	1/200	1/500	1/1.000	1/2.000	1/4.000	1/8.000	1/16.000
sérum du cobaye injecté de bacilles traités par le Lanthane							
totale en 2 h.	totale en 2 h.	totale en 2 h.	totale en 2 h.	totale 24 h.	totale 24 h.	totale 24 h.	partielle 24 h.
sérum du cobaye injecté de bacilles traités par le Thorium							
totale en 2 h.	totale en 2 h.	totale en 24 h.	totale en 24 h.	totale 24 h.	totale 24 h.	partielle 24 h.	nulle

On voit que ces sérums ont une action agglutinante très forte sur le B. pyocyanique.

Le sérum du cobaye injecté de bacilles traités au sulfate de lanthane est plus agglutinant que celui du cobaye injecté de bacilles traité au sulfate de thorium; nous avons constaté dans la suite les mêmes faits pour le sérum des lapins injectés de bacilles de la dysentérie traités par ces deux sels de terres rares. (Voir la 2e partie de cette thèse : chapitre II, § V).

Il est intéressant de rappeler que le lanthane est beaucoup moins bactéricide que le thorium; on peut admettre que l'inoculation des animaux avec des bacilles atténués mais vivants provoque une action agglutinante plus puissante du sérum de ces animaux que l'inoculation de bacilles atténués et morts.

2°) *Action antimicrobienne et antitoxique du sérum des cobayes immunisés avec du B. pyocyanique traité par le sulfate de lanthane et de thorium.*

Pour mettre en évidence les propriétés immunisantes de ces sérums, nous avons injecté des cobayes, avec une quantité plusieurs fois mortelle de Bacilles pyocyaniques virulents, additionnée de doses différentes du sérum dont nous voulons évaluer le pouvoir antitoxique et antivirulent.

Sérums et bacilles ont été laissés en contact une dizaine de minutes avant l'injection.

Ces injections ont été faites dans le péritoine.

Expérience. — Action immunisante.

Sérum de cobaye injecté de B. pyocyanique traité au Lanthane	0 cc. 01	0 cc. 10	0 cc. 50	1 cc.
Emulsion virulente de B. pyocyanique	2 cc.	2 cc.	2 cc.	2 cc.
Cobayes injectés avec ces mélanges	meurt	meurt	meurt	survit
Sérum du cobaye injecté de B. pyocyanique traité au Thorium	0 cc. 01	0 cc. 10	0 cc. 50	1 cc.
Emulsion virulente de B. pyocyanique	2 cc.	2 cc.	2 cc.	2 cc.
Cobayes injectés avec ces mélanges	meurt	meurt	meurt	survit

L'émulsion de Bacilles pyocyaniques employée pour cette expérience, a été préparée comme précédemment,

en mettant en suspension dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique, le produit d'une culture âgée de 24 heures d'un tube de gélose incliné.

Cette émulsion tuait le cobaye à la dose de 0 cm³ 20 en 24 heures.

La quantité injectée pour évaluer le pouvoir immunisant est dix fois plus grande que la dose mortelle.

Il a fallu ajouter à cette quantité 1 centimètre cube de sérum immunisant pour permettre la survie des cobayes injectés.

CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE

ACTION DES TERRES RARES SUR LE B. PYOCYANIQUE

1° Le Bacille pyocyanique cultivé sur un milieu contenant du sulfate d'erbium ou d'yttrium à 1 p. 5.000 est moins virulent que ce même bacille cultivé en présence de sulfate de lanthane ou de thorium dans les mêmes proportions. Le Bacille pyocyanique cultivé en présence de ces deux derniers sels est moins virulent que celui qui est cultivé sur un milieu identique mais ne contenant pas de sels de terres rares.

2° Les sulfates de lanthane, d'erbium, d'yttruim et de thorium ont une action agglutinante très puissante sur le Bacille pyocyanique (1 p. 32.000 à 1 p. 64.000).

3° Le pouvoir antiseptique de ces sels les classe dans l'ordre progressif suivant : lanthane, yttrium, erbium et thorium.

Le bacille mis en présence de sulfate de lanthane à 1 p. 100 durant 48 heures, cultive facilement sur la gélose. Le sulfate de thorium à la même concentration tue ce même bacille en une demi-heure.

4° Les Bacilles pyocyaniques traités par le sulfate de

lanthane ou de thorium sont moins toxiques et moins virulents que les mêmes bacilles traités par les sulfates d'erbium et d'yttrium.

Le sulfate de lanthane sans tuer les microbes les rend moins virulents et moins toxiques que les sulfates d'erbium et d'yttrium, il appert donc que ;

La nocivité d'une émulsion microbienne, traitée par un sel de terre rare, n'est pas en rapport avec le pouvoir microbicide de ce sel. Ainsi le sulfate de lanthane qui exerce une action antiseptique et microbicide moins grande que les sels d'erbium et d'yttrium, possède un pouvoir antivirulent plus grand que ces deux sels vis-à-vis du *Bacille pyocyanique*.

5° Les émulsions microbiennes atténuées par l'action du sulfate de lanthane ou de thorium peuvent servir pratiquement à l'immunisation des animaux vis-à-vis du B. pyocyanique.

6° Le sérum du cobaye immunisé par ce procédé, acquiert : Un pouvoir agglutinant très puissant sur le Bacille pyocyanique (1 p. 8.000 à 1 p. 16.000).

Un pouvoir immunisant pour le cobaye vis-à-vis de ce microbe.

Il semble que cette méthode d'immunisation pourrait être généralisée et donnerait des résultats intéressants pour la production de sérums antimicrobiens.

DEUXIÈME PARTIE

ACTIONS DE QUELQUES TERRES RARES SUR LES BACILLES DE LA DYSENTERIE

(*B. de Shiga et B. de Flexner*).

Historique et propriétés biologiques.

Le Bacille de la dysenterie épidémique a été découvert par Chantemesse et Widal en 1888 (1). Shiga a complété la description du bacille et fourni la démonstration de sa spécificité.

Il a été décrit plusieurs races de Bacilles dysentériques, se différenciant par des particularités minimes en particulier par leur action fermentative sur les sucres (Shiga et Krüse, Flexner, Deycke, Hiss, Strong, etc...).

Pratiquement, on les ramène à deux types principaux : le Bacille de Shiga et le Bacille de Flexner.

Strong (2) et Musgrave ont fait ingérer à un condamné à mort une culture de Bacille dysentérique en bouillon.

1. Chantemesse et Widal, Le microbe de la dys. épidémique. *Bulletin de l'Académie de Médecine*, 17 Avril 1888. Chantemesse, Le microbe de la dysenterie épidémique. *Bulletin de l'Acad. de Médecine*, 22 Juillet 1902.

2. Strong, A study of the encapsulated bacille. *Journal of the Boston Soc. of the Medecine*, t. III, 1899, page 185.

Ils obtinrent au bout de 36 heures une dysentérie typique qui évolua vers la guérison : le bacille se trouvait dans les selles sanglantes.

Pour les animaux, l'inoculation dans les voies digestives donne ordinairement des résultats négatifs. Chantemesse a cependant observé chez le cobaye des lésions intestinales à la suite d'inoculation de bacilles par la voie buccale.

L'inoculation intrapéritonéale détermine une péritonite généralisée rapidement mortelle.

Vaillard et Dopter (1) immunisent des chevaux en leur injectant, dans les veines, de semaine en semaine, des doses alternées et progressives de microbes vivants et de toxine. Ils commencent par injecter un quart de centimètres cube de bouillon de culture de 24 heures. Ils doublent la quantité à chaque nouvelle injection jusqu'à un maximum de 50 centimètres cubes de bouillon de culture.

Le sérum de ces chevaux est immunisant pour le lapin. Une dose de 0 gr. 125 à 0 gr. 25 de ce sérum injecté à un lapin, lui permet de résister à une dose mortelle de culture active.

Le *Bacille de Flexner* a une action pathogène moins marquée que le Bacille de Shiga, *mais l'inoculation intrapéritonéale donne à peu près les mêmes symptômes que ceux observés avec le Bacille de Shiga.*

Vaillard et Dopter (2) ont démontré que les cultures tuées par chauffage à 85 degrés pendant 30 minutes

1. Vaillard et Dopter, *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1906, page 321.
2. Vaillard et Dopter, *Loc. cit.*, page 234.

étaient presque aussi actives que les cultures vivantes, tuant le lapin dans le même laps de temps.

Pour préparer la toxine, Vaillard et Dopter émulsionnent dans une petite quantité d'eau distillée stérile du produit de raclage de culture sur gélose âgée de 48 heures. Ils ajoutent quelques gouttes de chloroforme à l'émulsion, ou la chauffent à 58 degrés pendant une heure. Les microbes sont tués. L'émulsion est répartie en tubes scellés qui sont laissés à 37 degrés pendant 20 à 30 jours. Le liquide limpide provenant de l'autolyse est décantée; il tue le lapin en quatorze à vingt-quatre heures (suivant le poids de l'animal) lorsqu'il est injecté à la dose de un demi-centimètre cube dans la veine auriculaire.

Neisser et Shiga (1) traitent le produit de culture par de la solution physiologique, chauffent à 60 degrés pendant une heure, laissent autolyser quarante-huit heures à 37 degrés, et filtrent sur bougie. Un quart à un demi-centimètre cube du liquide injecté à un lapin, dans la veine auriculaire le tue en 48 heures.

Action des terres rares.

Nous avons repris l'étude de l'action des terres rares, sur les Bacilles de la dysenterie types Shiga et Flexner; 1° en les additionnant au milieu de culture; 2° en faisant agir une solution de terre rare sur une émulsion de bacilles, cultivés sur un milieu simple.

1. Uber Frei Receptoren von typhus und Dysenteriebacillen und uber das Dysenterietoxin (*Deutsche med. Woschenschr.*, 1903), Shiga.

CHAPITRE PREMIER

ADDITION DE SELS DE TERRES RARES DANS LE MILIEU DE CULTURE

Nous avons préparé un milieu gélosé identique à celui qui nous a servi pour la culture du B. pyocyanique : bouillon de veau gélosé, peptoné, et additionné de sels de terres rares.

Les sels de terres rares employés au cours de cette expérience sont les sulfates de lanthane, de thorium, d'erbium et d'yttrium.

L'addition de chaque sel a été faite à la dose de 1 gramme pour 5.000 grammes de milieu. Avant d'ajouter ces sels, le milieu est divisé en cinq parties.

Une partie du milieu gélosé n'est pas additionnée de sel pour servir de milieu témoin, les autres parties sont additionnées chacune d'un des sels de terres rares indiqués ci-dessus. Les différents milieux ainsi préparés, sont répartis dans des tubes à essais, stérilisés, et inclinés.

Les Bacilles de Flexner et de Shiga (1) ensemencés,

1. Nous nous sommes servi d'échantillons provenant de l'Institut Pasteur.

en surface, sur ces divers milieux, ne poussent pas d'une façon homogène et constante comme le bacille pyocyanique.

Au bout de 24 ou de 48 heures, à l'étuve à 37°, on obtient des colonies plus ou moins nombreuses parsemées sur la surface des milieux gélosés contenant des sels de terres rares, tandis que dans le milieu témoin la culture couvre toute la surface ensemencée.

Voici, approximativement, la proportion des surfaces couvertes par la culture de ces bacilles, au bout de 48 heures, à l'étuve à 37°.

milieu témoin	milieu + Lant. 1 p. 5.000	milieu + Yttr. 1 p. 5.000	milieu + Erb. 1 p. 5.000	milieu + Thor. 1 p. 5.000
Proportion de la surface couverte par la culture du B. Flexner				
$\frac{10}{10}$	$\frac{7}{10}$	$\frac{5}{10}$	$\frac{4}{10}$	$\frac{2}{10}$
Proportion de la surface couverte par la culture du B. Shiga				
$\frac{9}{10}$	$\frac{5}{10}$	$\frac{4}{10}$	$\frac{3}{10}$	$\frac{1}{10}$

Morphologie.

La forme des bacilles, cultivés sur les milieux additionnés de sels de terres rares dans les proportions indiquées, se différencie peu de ceux obtenus sur le milieu témoin, sauf pour le milieu contenant du lan-

thane. Sur ce dernier, les Bacilles de Flexner et de Shiga prennent une forme plus allongée et surtout beaucoup plus mince que sur tous les autres milieux.

Nota. — A la dose de 1 p. 1.000, ces sels empêchent le développement de ces bacilles.

CHAPITRE II

ACTIONS DES TERRES RARES SUR DES ÉMULSIONS DE BACILLES DYSENTÉRIQUES TYPES SHIGA ET FLEXNER CULTIVÉS SUR UN MILIEU SIMPLE

(*Bouillon de veau gélosé, peptoné*).

Dans ce chapitre, nous exposerons le résultat de nos recherches sur :

1°) Le *pouvoir agglutinant* des sulfates de lanthane, de thorium, d'erbium et d'yttrium sur des émulsions de Bacilles dysentériques.

2°) Le *pouvoir antiseptique* de ces sels sur ces bacilles.

3°) L'*action antivirulente* et *antitoxique* de ces sels de terres rares sur les B. Flexner et Shiga.

4°) L'inoculation expérimentale et l'immunisation de lapins injectés avec des cultures de Bacilles dysentériques atténuées par l'action des sulfates de lanthane et de thorium.

5°) Les propriétés acquises par le sérum de ces lapins au point de vue du pouvoir agglutinant et immunisant vis-à-vis des bacilles de la dysentérie.

§ I. — Pouvoir agglutinant des Sulfates d'erbium, de lanthane, de thorium et d'yttrium sur les Bacilles de la dysenterie : types Flexner et Shiga

Nous avons ensemencé des tubes de bouillon peptoné, gélosé, inclinés, avec des Bacilles de Flexner et Shiga (Echantillons provenant de l'Institut Pasteur).

Les cultures obtenues au bout de 24 heures à l'étuve à 37° ont été émulsionnées, dans de la solution physiologique stérilisée, au moyen de pipettes effilées à boules, en raclant la surface du milieu de culture avec le bout effilé de la pipette, en aspirant le liquide dans la boule et en le projetant sur la surface du milieu à plusieurs reprises.

Le volume de l'émulsion, ainsi obtenue, est ramené à 50 ou 60 centimètres cubes par tube de culture au moyen d'une solution physiologique stérilisée.

Les émulsions de Bacilles de Flexner et Shiga, obtenues de cette façon, sont distribuées dans des petits tubes à essais (dits à hémolyse) : un centimètre cube par tube.

On ajoute à chacune de ces tubes deux gouttes d'une solution de terres rares.

Les solutions que nous avons préparées à cet usage étaient aux dilutions suivantes, pour chaque sel : 1 p. 100 1 p. 500, 1 p. 1.000, 1 p. 2.000, 1 p. 4.000, 1. p. 8.000. En prenant deux gouttes de ces solutions, au moyen d'une pipette compte-gouttes, pour les ajouter à un centimètre cube d'émulsion de microbes, la quantité

de sel de terre rare additionnée, correspond aux poids suivants pour les différentes dilutions : 0 gr. 001 ; 0 gr. 0002; 0 gr. 0001; 0 gr. 00005; 0 gr. 000025 et 0 gr. 0000125.

Les différentes émulsions ainsi additionnées de sel de terres rares sont agitées et placées à l'étuve à 37°.

On observe l'agglutination produite au bout de deux heures et de vingt-quatre heures.

Nous donnons ci-après les résultats obtenus sur les Bacilles de la dysentérie.

Un tube d'émulsion de chaque microbe n'est pas additionné de terre rare et sert de témoin.

Agglutination du Bacille Flexner.

Poids du sel	0 gr. 001	0 gr. 0002	0 gr. 0001	0 gr. 00005	0 gr. 000025	0 gr. 0000125
Erbium	ag. totale en 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 24 h.	ag. partielle 24 h.	ag. partielle 24 h.
Lanthane	ag. totale en 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 24 h.	ag. partielle 24 h.
Thorium	ag. totale en 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 24 h.	ag. partielle 24 h.	ag. partielle 24 h.	ag. nulle 24 h.
Yttrium	ag. totale en 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 24 h.	ag. totale 24 h.	ag. partielle 24 h.
témoin	0	0	0	0	0	0

Agglutination du Bacille Shiga.

Poids du sel	0 gr. 001	0 gr. 0002	0 gr. 0001	0 gr. 00005	0 gr. 000025	0 gr. 0000125
Erbium	ag. totale en 2 h.	ag. totale 24 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 24 h.	ag. partielle 24 h.	ag. partielle 24 h.
Lanthane	ag. totale en 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 24 h.	ag. partielle 24 h.	ag. partielle 24 h.
Thorium	ag. totale en 2 h.	ag. totale 2 h.	ag. totale 24 h.	ag. partielle 24 h.	ag. partielle 24 h.	ag. nulle 24 h.
Yttrium	ag. totale en 2 h.	ag. totale en 24 h.	ag totale en 24 h.	ag. partielle 24 h.	ag. nulle 24 h.	ag. nulle 24 h.
témoin	0	0	0	0	0	0

II. — Pouvoir antiseptique des sels de terres rares sur les Bacilles de Flexner et Shiga.

Au cours de nos recherches, nous nous sommes servi, pour atténuer des émulsions virulentes de Bacilles, de solutions de sulfate de lanthane, de thorium, d'erbium et d'yttrium à 1 p. 100.

Les émulsions de microbes traitées par ces solutions de terres rares, durant 24 ou 48 heures, devenaient beaucoup moins virulentes qu'avant ce traitement. Les lapins injectés avec de telles émulsions résistaient à des doses deux et trois fois plus fortes que la dose mortelle de Bacilles virulents.

Nous avons cherché à savoir si les Bacilles, mis en

contact de ces solutions de terres rares pendant ce laps de temps, étaient vivants ou tués par l'action antiseptique de ces sels.

Nous avons ensemencé des tubes inclinés, de bouillon de veau gélosé et peptoné, avec des Bacilles de Shiga et de Flexner.

Les cultures obtenues au bout de 24 heures à l'étuve à 37° ont été émulsionnées, par le moyen que nous avons déjà indiqué, dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique stérilisée par tube de culture. Nous avons préparé ainsi cinq émulsions de chacun des deux Bacilles de Shiga et Flexner.

Une émulsion sert de témoin.

Les quatre autres émulsions sont additionnées chacune d'un volume égal de solution d'un des sels de terres rares à 2 p. 100. Ce qui ramène à 1 p. 100 la proportion de sel de terre rare dans le mélange ainsi préparé.

Après 48 heures de contact, les Bacilles sont fortement agglutinés. Nous décantons les liquides; les dépôts microbiens sont recueillis et lavés deux fois à l'eau physiologique pour enlever toute trace de sel de terre rare.

Nous ferons remarquer que les dépôts microbiens précipités par les terres rares, recueillis et agités énergiquement dans de la solution physiologique, se précipitent immédiatement après que l'agitation cesse.

Les dépôts de Bacilles ainsi traités ont été ensemencés sur du bouillon de veau, gélosé et peptoné, et placés à l'étuve à 37° pendant quarante-huit heures.

Au bout de ce temps, les cultures couvraient les surfaces des milieux ensemencés dans les proportions approximatives suivantes :

Bacille de Flexner traité par la solution de Lanthane	$\frac{6}{10}$	de la surface.
— — — — d'Yttrium	$\frac{5}{10}$	—
— — — — d'Erbium	$\frac{2}{10}$	—
— — — — de Thorium	0	—
Bacille de Flexner témoin	$\frac{10}{10}$	—
Bacille de Shiga traité par la solution de Lanthane	$\frac{4}{10}$	—
— — — — d'Yttrium	$\frac{3}{10}$	—
— — — — d'Erbium	$\frac{1}{10}$	—
— — — — de Thorium	0	—
Bacille de Shiga témoin	$\frac{9}{10}$	—

Nous observons : que l'action microbicide de ces quatre sels se trouve dans l'ordre progressif suivant; sulfate de lanthane, yttrium, erbium, thorium; que le sulfate de thorium rend l'émulsion de Bacilles complètement stérile, à la dose de 1 p. 100 et après un contact de 48 heures. Nous avons essayé de diminuer la durée de l'action du sel de thorium sur l'émulsion microbienne. Cette émulsion était stérile, même après un contact d'une demi-heure.

Il ressort de cet essai, que le sulfate de thorium possède un pouvoir bactéricide puissant. Ceci est d'autant plus intéressant que ce sel est d'une certaine innocuité

sur les phénomènes digestifs et de la nutrition (1).

Nous voyons d'autre part que l'action empêchante de ces quatre sels, additionnés dans le milieu de culture, les classe dans le même ordre que leur action bactéricide (voir le chapitre Ier de la deuxième Partie).

§ III. — Action antitoxique et antivirulente des sels de terres rares sur les Bacilles de Flexner et Shiga mise en évidence par injection intrapéritonéale chez le lapin.

Nous savons que les cultures de Bacilles de la dysentérie donnent généralement des résultats négatifs par inoculation dans les voies digestives chez les animaux. Par contre, l'inoculation intrapéritonéale de ces Bacilles détermine une péritonite généralisée rapidement mortelle.

Nous savons aussi que le Bacille de Flexner a une action pathogène moins marquée que le bacille de Shiga, mais que l'inoculation intrapéritonéale donne à peu près les mêmes résultats pour les deux bacilles.

Les germes de Bacilles de Flexner et Shiga, que nous avons employés, ensemencés sur de la gélose dans un tube à essais incliné, tuaient le lapin à la dose de 1 centimètre cube d'émulsion (le produit d'un tube de culture de 24 heures à 37 degrés étant recueilli avec 10 centimètres cubes d'eau physiologique).

1. Action bactéricide des sels de lanthane et de thorium sur le vibrion cholérique. MM. A. Frouin et Roudsky, *C. R. de l'Acad. des Sciences.* Séance du 10 Août 1914, t. CLXIX, p. 410.

Pour atténuer la toxicité et la virulence de ces Bacilles, par l'action des terres rares, nous avons suivi la méthode que nous avons employée pour le Bacille pyocyanique (1) : Les émulsions microbiennes (obtenues en recueillant, avec 10 centimètres cubes d'eau salée stérile par tube, les cultures âgés de 24 heures) sont additionnées d'un volume égal de sulfate d'erbium, de lanthane, de thorium ou d'yttrium, à 2 p. 100 et centrifugées après 48 heures de contact. Les liquides sont décantés, les dépôts microbiens agités dans de l'eau physiologique et centrifugés à deux reprises, de façon à enlever toutes traces du sel de terre rare employé.

Les dépôts microbiens provenant de la troisième centrifugation sont délayés, au moyen d'un agitateur stérilisé, dans dix centimètres cubes chacun, d'eau physiologique stérile, et prêts à servir pour inoculer les lapins.

Nous en avons injecté huit lapins : quatre pour chacun des deux Bacilles de Flexner et Shiga traités par les sels de terres rares suivants : sulfates de lanthane, thorium, erbium et yttrium. La dose employée est de 1 cm³ 30, soit supérieure à la dose mortelle pour des bacilles non traités.

Ces injections sont toujours intrapéritonéales.

Expériences. — 1° Lapins injectés avec 1 cc³ 3 de bacilles de Flexner.

Lapin n° 89	Poids 1 kg.	900	inject. de bacilles traités avec			Erbium meurt ap. 6 j.
— 97	— 2 —	250	—		—	Lanthane survit
— 98	— 2 —	200	—		—	Thorium survit
— 88	— 3 —	600	—		—	Yttrium meurt ap. 6 j.

1. Voir la première Partie de cette thèse.

2°. — Lapins injectés avec 1 cc³ 3 de Bacilles de Shiga.

Lapin n° 91	Poids 2 kg. 700	inject. de bacilles traités avec	Erbium	meurt ap. 7 j.
— 96	— 2 — 350	—	—	Lanthane	survit.
— 90	— 2 — 250	—	—	Thorium	survit.
— 73	— 2 — 600	—	—	Yttrium	meurt ap. 6 j.

Il apparaît nettement, de ces deux expériences, que les sulfates de lanthane et de thorium ont une action, antitoxique et antivirulente, plus puissante que les deux autres sels de terres rares.

D'autre part, nous avons observé que le thorium rendait l'émulsion de microbes stérile, tandis que les Bacilles de Shiga et de Flexner traités avec le lanthane durant 48 heures étaient encore capables de cultiver assez abondamment.

On peut donc admettre que le *thorium* exerce seulement une action microbicide très nette tandis que le *lanthane,* qui a un effet microbicide moins important, exerce une véritable action antivirulente et antitoxique sur les bacilles dysentériques.

§ IV. — Immunisation du lapin par injections de cultures atténuées par l'action de sels de terres rares

Nous avons constaté, dans l'expérience précédente, que les sels de lanthane et de thorium atténuaient la virulence et la toxicité des bacilles de Flexner et Shiga,

plus fortement que les autres sels de terres rares employés.

MM. Froüin et Roudsky (1) avaient employé ces deux sels pour leurs travaux sur le choléra expérimental, en 1914, et constaté l'action bactéricide et antitoxique qu'ils possédaient sur le vibrion cholérique.

Nous nous sommes servi uniquement de ces deux sels : sulfates de lanthane et de thorium pour atténuer les Bacilles de Flexner et de Shiga qui devaient être injectés aux lapins, dans le but d'obtenir leur immunisation.

Les lapins qui ont survécu à l'expérience précédente, ayant déjà reçu chacun 1 cm³ 30 d'émulsion de Bacilles dysentériques, atténués par l'action du lanthane et du thorium comme nous l'avons indiqué, pouvaient nous servir pour cette expérience. Il suffisait de leur injecter les mêmes types de bacilles, traités par les mêmes sels, en augmentant progressivement la dose de l'émulsion microbienne injectée dans le péritoine.

C'est ce que nous avons fait. Le volume de l'émulsion injectée était doublé à chaque nouvelle injection : 2 cc³ 5; 5 centimètres cubes; 10 centimètres cubes et 20 centimètres cubes, soit 2 tubes de culture.

L'intervalle laissé entre chaque injection était de 10 à 15 jours : laps de temps nécessaire aux lapins pour leur permettre de reprendre leur poids initial.

Nous sommes arrivé, par ce moyen, à injecter à

1. MM. Albert Frouin et D. Roudsky, Action bactéricide et antitoxique des sels de lanthane et de thorium sur le vibrion cholérique. Action thérapeutique de ces sels dans le choléra expérimental, *C. R. de l'Acad. des Sciences*, t CLXIX, p. 410, 10 août 1914.

chaque lapin, le produit de deux tubes de culture de Bacilles de Flexner et Shiga atténués soit par le lanthane, soit par le thorium.

Arrivés à cette dose, nous saignons, partiellement, ces lapins à la carotide, dix jours après la dernière injection, pour étudier les propriétés acquises par leur sérum (voir le paragraphe suivant).

Trois jours après cette saignée, nous voulons constater l'immunisation de ces lapins vis-à-vis des bacilles avec lesquels ils étaient injectés.

Nous inoculons chaque lapin avec la moitié du produit d'un tube de culture virulente, soit cinq fois la dose mortelle pour un lapin non immunisé.

Tous ces lapins survivent et leur poids après tous ces traitements est supérieur au poids initial.

Lapins immunisés contre le Bacille de Flexner.

Lapin n° 97. Poids initial 2 kg. 250. Poids définitif 2 kg. 520.
— 98. — 2 — 200. — 2 — 610.

Lapins immunisés contre le Bacille de Shiga.

Lapin n° 96. Poids initial 2 kg. 350. Poids définitif 2 kg. 610
— 90. — 2 — 250. — 2 — 500.

§ V. — Pouvoir agglutinant et antimicrobien du sérum des lapins injectés avec des Bacilles dysentériques atténués par l'action des sulfates de lanthane et de thorium

Le sang des lapins, immunisés comme nous l'avons exposé dans le précédent paragraphe, a été reçu aseptiquement dans des tubes bouchés au coton et stériles.

Après quarante-huit heures, à la glacière, le sérum, séparé du caillot, a été décanté au moyen de pipettes à boules stérilisées, et remis dans des tubes à essais bouchés au coton et également stériles.

Les sérums sont ensuite placés dans la glacière et retirés au moment de s'en servir.

1° *Pouvoir agglutinant de ces sérums sur les Bacilles de Flexner et Shiga.*

Nous avons préparé des émulsions de Bacilles de Flexner et de Bacilles de Shiga, pareilles à celles qui nous ont servi pour étudier l'action agglutinante des sels de terres rares (Voir le § I, de ce chapitre).

Nous distribuons ces émulsions dans des tubes dits à hémolyse, à la dose de un centimètre cube par tube.

A chacun de ces tubes nous ajoutons 1 centimètre cube de sérum à différentes dilutions.

Nous plaçons les mélanges ainsi obtenus à l'étuve à 37° et nous observons au bout de 2 heures et de 24 heures l'agglutination produite.

Les dilutions des sérums indiquées dans les tableaux suivants sont rapportées au volume total du mélange de sérum et d'émulsion microbienne,

Agglutination du Bacille de Flexner, par le sérum des lapins injectés avec des émulsions de B. de Flexner atténués.

Dilutions	1/250	1/500	1/1.000	1/2.000	1/4.000	1/8.000
Sérum du n° 97	totale en 2 h.	totale 24 h.	partielle 24 h.	nulle 24 h.	nulle 24 h.	nulle 24 h.
Sérum du n° 98	totale en 2 h.	totale 24 h.	nulle 24 h.	nulle 24 h.	nulle 24 h.	nulle 24 h.

Le lapin n° 97 est celui qui a été injecté avec des Bacilles atténués par le Lanthane.

Le lapin n° 98 est celui qui a été injecté avec des Bacilles atténués par le Thorium.

Agglutination du Bacille de Shiga, par le sérum des lapins injectés avec des émulsions de B. de Shiga atténués.

Dilutions	1/250	1/500	1/1.000	1/2.000	1/4.000	1/8.000
Sérum du n° 96	totale en 2 h.	totale 2 h.	totale 2 h.	totale 24 h.	totale 24 h.	partielle 24 h.
Sérum du n° 90	totale en 2 h.	totale 2 h.	totale 24 h.	totale 24 h.	totale 24 h.	nulle 24 h.

Le lapin n° 96 est celui qui a été injecté avec des Bacilles atténués par le Lanthane.

Le lapin n° 90 est celui qui a été injecté avec des Bacilles atténués par le Thorium.

Remarque. — Nous savons que le sérum normal du lapin agglutine le Bacille de la dysenterie à la dose de 1 p. 80.

2° *Pouvoir antimicrobien de ces sérums vis-à-vis du Bacille de Flexner et du Bacille de Shiga.*

Nous ensemençons deux tubes de gélose peptonée; l'un avec du Bacille de Flexner, l'autre avec du Bacille de Shiga.

Après quarante-huit heures à l'étuve à 37° nous recueillons les cultures obtenues, avec dix centimètres cubes, par tube, d'eau physiologique stérilisée.

Les émulsions ainsi préparées tuent le cobaye à la dose de 0 cm³ 50 en injection intra-péritonéale.

Nous injectons cette quantité d'émulsion de Bacilles de Flexner et de Bacilles de Shiga, à deux cobayes différents, pour servir de témoins.

Quatre autres cobayes sont injectés avec une dose d'émulsion de bacilles quatre fois plus grande, c'est-à-dire quatre fois la dose mortelle, 2 centimètres cubes, mais nous additionnons à chaque dose un centimètre cube de sérum de lapin immunisé vis-à-vis du bacille injecté, par le procédé que nous avons indiqué. (Voir IV du présent chapitre).

Voici le résultat de ces expériences :

Première expérience. — Pouvoir immunisant vis-à-vis du B. de Flexner.

Cobayes	Poids	injectés avec émulsion de B. de Flexner	+ Sérum du lap.	Résultats
N° 15	370 gr.	—	2 cc³ (n° 97) 1 cc³	survit
— 6	370 —	—	2 — (n° 98) 2 —	survit
— 19	380 —	—	0 — 50 témoin.	meurt

Le témoin meurt le troisième jour qui suit l'injection; les autres survivent.

Deuxième expérience. — Pouvoir immunisant vis-à-vis du B. de Shiga.

Cobayes	Poids	injectés avec émulsion de B. de Shiga	+ sérum du lapin.		Résultats
N° 3	340 gr.	—	—	2 cc³ (n° 96) 1 cc³	survit
— 11	340 —	—	—	2 — (n° 90) 1 cc³	survit
— 4	400 —	—	—	0 — 50 témoin.	meurt

Le témoin meurt quarante-huit heures après l'injection.
Les deux autres survivent.

Nous observons donc que les cobayes injectés dans le péritoine avec 0 cm³ 50 d'émulsion de Bacilles de Flexner et de Shiga meurent le deuxième ou le troisième jour qui suit l'injection.

Les cobayes injectés, dans le péritoine, avec une dose quatre fois plus forte, survivent grâce à l'action immunisante des sérums additionnés à cette quantité de bacilles.

CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE

ACTION DES TERRES RARES SUR LE B. DYSENTÉRIQUE

1° Additionnés aux milieux de culture, les sulfates de *thorium*, d'*erbium*, d'*yttrium* et de *lanthane*, diminuent le développement des Bacilles de Flexner et Shiga, à la dose de 1 p. 5.000. A des concentrations voisines de 1 p. 1.000, ces sels s'opposent au développement de ces microbes.

2° Ces mêmes sels de terres rares ont un *pouvoir agglutinant* très puissant, sur les émulsions de ces deux bacilles, 1 p. 40.000 et parfois 1 p. 80.000. (0 gr. 0000125 de sel de terre rare dans 1 centimètre cube d'émulsion).

3° Ces quatre sels, à la proportion de 1.100, ont une action *bactéricide* sur les Bacilles de Flexner et Shiga; forte pour le *thorium*, beaucoup moins énergique pour le *lanthane*.

Leur action bactéricide les classe dans le même ordre que leur pouvoir empêchant sur la multiplication des bacilles.

4° L'action *antitoxique* ou *antivirulente* du *lanthane*

et du *thorium*, sur les deux bacilles en émulsion, est *plus forte* que celle de l'*erbium* et de l'*yttrium*.

Ce pouvoir antitoxique ou antivirulent n'est pas *parallèle* au pouvoir bactéricide de ces sels.

5° Les *lapins* injectés avec des émulsions de Bacilles dysentériques atténués par l'action du lanthane ou du thorium sont *immunisés* vis-à-vis des bacilles virulents.

6° Le *sérum*, des lapins ainsi immunisés, acquiert :

A. — *Un pouvoir agglutinant* sur les Bacilles dysentériques en émulsion, allant jusqu'à 1 p. 1.000 pour le B. de Flexner et 1 p. 8.000 pour le B. de Shiga ;

B. — *Un pouvoir immunisant* pour le cobaye contre des doses plusieurs fois mortelles de Bacilles dysentériques.

7° L'action bactéricide et antitoxique des sels de thorium et de lanthane vis-à-vis des Bacilles de Shiga et de Flexner et l'inocuité de l'ingestion de ces sels permettent d'espérer que l'on aura, dans ces sels, un agent thérapeutique efficace pour le traitement des dysentéries bacillaires.

Vu :
Nancy, le 10 juillet 1919 :
Pour le Directeur de l'Ecole Supérieure
de Pharmacie.
FAVREL

Vu et permis d'imprimer :
Nancy, le 11 juillet 1919.
Le Recteur de l'Université de Nancy,
Ch. ADAM
Membre de l'Institut.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

AVANT-PROPOS 7
INTRODUCTION 9
Historique des terres rares 11
Action des terres rares sur les microbes. 13

PREMIÈRE PARTIE

Action de quelques terres rares sur le Bacille pyocyanique.

CHAPITRE I.

Action des terres rares additionnées aux milieux de culture . . 38

CHAPITRE II.

Action des solutions de terres rares sur le Bacille pyocyanique en émulsion dans l'eau physiologique 49
CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE. 61

DEUXIÈME PARTIE

Action de quelques terres rares sur les Bacilles de la dysenterie.

CHAPITRE I.

Addition de ces terres rares dans le milieu de culture. 70

CHAPITRE II

Action des solutions de terres rares sur les bacilles dysentériques en émulsion dans de l'eau physiologique. 73
CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE. 88

COULOMMIERS. — Imp. DESSAINT & Cie, 41, rue de Melun.